Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Enzyme in Ovarialtumoren

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Inge Geier, geb. Ganzenmüller
aus Stuttgart

1969

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543901_0053

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Enzyme in Ovarialtumoren

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Inge Geier, geb. Ganzenmüller
aus Stuttgart

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. med. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Professor Dr. med. G. Jung
2. Berichterstatter: Professor Dr. med. H. Roemer

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A)	Einleitung	1
B)	Material und Methodik	4
C)	Eigene Ergebnisse	10
	1) Aldolase	11
	2) Glutamatdehydrogenase	20
	3) Glucose-6-Phosphat-dehydrogenase	30
	4) Alkalische und saure Phosphatase	36
D)	Besprechung der Ergebnisse	50
E)	Zusammenfassung	54
F)	Literaturverzeichnis	55

A) EINLEITUNG

Seit WARBURG in den frühen zwanziger Jahren die hohe aerobe Glykolyse in der Krebszelle feststellte, begann die intensive Beschäftigung mit der Biochemie der Tumoren. Allerdings gelang es bis heute noch nicht, einen bestimmten Fermentdefekt der Krebszelle zu finden.

Nach J.P. GREENSTEIN (1956) sind die biochemischen Eigenschaften verschiedener maligner Tumoren sehr ähnlich, obwohl ihre Muttergewebe große biochemische Unterschiede aufweisen.

In der Literatur findet sich eine große Zahl biochemischer Untersuchungen an tierischen Tumoren, in neuerer Zeit auch an menschlichen, die der Auffassung GREENSTEINS teilweise widersprechen.

In dieser Arbeit soll die Aktivität der 5 Fermente, Aldolase, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, Glutamatdehydrogenase, sowie der Sauren und Alkalischen Phosphatase in menschlichen Ovarialtumoren untersucht werden. Da Ovarialtumoren in der Regel relativ groß werden, liefern sie ausreichend Material für wiederholte biochemische Untersuchungen.

Bislang wurden nur sehr wenige biochemische Arbeiten über das Ovar und seine Tumoren veröffentlicht. Die weitaus größte Zahl von Untersuchungen der Ovarialtumoren erfolgte mit histochemischen Methoden. So wies GENESI (1953) die alk. Phosphatase histochemisch im normalen menschlichen Ovar und in Ovarialtumoren nach. FORD und HIRSCHMANN (1955) untersuchten histochemisch den Zusammenhang der Aktivität der alkalischen Phosphatase in Rattenovarien mit den einzelnen Zyklusphasen. KRIZ (1956) bestimmte mit histochemischen Methoden die alk. Phosphatase unter anderem in einem Pseudomucincystom des Ovars. ARVY (1960) untersuchte ebenfalls auf histochemischem Wege die alk. Phosphatase, die Carboanhydrase und die Succinodehydrogenase im Ovar. OMNIS und CAREDDU (1962) veröffentlichten auf histochemischem Wege gefundene Daten über die Aldolaselokalisation

im Ovar. CAREDDU (1963) bestimmte mit histochemischen Methoden die Aldolaseaktivität im normalen Ovar, im Ovarialcarcinom und in Stein-Leventhal-Ovarien. LUH und BRANDAU (1964) veröffentlichten eine histochemische Arbeit über glykolytische und NADP-abhängige Oxydoreduktasen im Ovar.

Von DE ROETTH (1957) wurde eine große biochemische Untersuchungsreihe an 116 gynaekologischen Tumoren, davon alleine 51 Ovarialtumoren durchgeführt. Darin wurde der Versucht unternommen, einen Zusammenhang der Malignität vor allem von Adenocarcinomen des Ovars mit deren glykolitischer Aktivität aufzuzeigen. E. KIDESS (1960) untersuchte auf biochemischem Wege vor allem Phosphatasen und Endopeptidasen im Schweineovar. G. JUNG (1965) arbeitete über Endo- und Exopeptidasen sowie Phosphatasen im Ovar des Schweines. G. JUNG und Mitarbeiter (1966) bestimmten biochemisch die Aktivität der Aldolase, der Alkalischen und Sauren Phosphatase in verschiedenen Ovarialtumoren. FRÖSNER (1967) untersuchte die Aktivität der Aldolase und der unspezifischen Phosphatasen im Schweineovar. G. JUNG u.a. (1967) untersuchten die Isoenzyme der Lactatdehydrogenase im Ovarialcarcinom, Ascites und Serum.

Auf Grund der oben genannten histo- und biochemischen Arbeiten über das Ovar erschienen uns folgende Fragen von Interesse:

1.) Wie verhält sich die Glykolyse in malignen und benignen Ovarialtumoren im Vergleich zum normalen Ovar? Als Maß für die Intensität der Glykolyse sollte uns die Aktivität der Aldolase in den einzelnen Geweben dienen.

2.) Welche Bedeutung hat der Pentose-Phosphat-Zyklus in den Ovarialtumoren in Vergleich zum normalen Muttergewebe? DieAktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase als "Starterferment" dieses Zyklus soll als Maßstab für die Stärke dieses Stoffwechselprozesses dienen.

3.) Unterscheidet sich die Aktivität der Glutamat-Dehydrogenase in den einzelnen Ovarialtumoren von der normaler Ovarien?

4.) Gibt es einen Aktivitätsunterschied der unspezifischen Alkalischen und Sauren Phosphatasen zwischen Ovarialtumoren und normalem Eierstockgewebe?

5.) Beeinflußt eine radiologische und cytostatische Vorbehandlung die Aktivität dieser fünf Fermente in malignen Ovarialtumoren? Die dazu notwendigen Versuche sind in vorliegender Arbeit beschrieben.

B) MATERIAL UND METHODIK

Unsere Untersuchungen führten wir an Operationsmaterial durch, das nach Entnahme sofort bei -20° C eingefroren wurde. Diese zur Verfügung stehenden Gewebe wurden in den Jahren 1964-1966 gesammelt und alle unter den selben Bedingungen aufbewahrt. Alle Gewebe sind histologisch untersucht. Sämtliche Tumoren, benigne und maligne sind histologisch gesichert, ebenso die normalen Ovarien.

Im einzelnen standen uns zur Verfügung:
2 normale Ovarien.
3 benigne Ovarialtumoren, darunter ein Fibrom des Ovars, eine Struma ovarii ohne Anhalt für Malignität, eine Cystadeoma papillare serosum.
4 Adenocarcinome des Ovars ohne praeoperative cystostatische oder radiologische Therapie.
1 maligner Granulosazelltumor, der ebenfalls praeoperativ nicht behandelt wurde.
4 maligne Ovarialtumoren, die praeoperativ mit 3 gr Endoxan und Radiom- bzw. Röntgenbestrahlung behandelt worden waren, darunter ein unreifes, solid wachsendes Adenocarcinom, ein schleimbildendes Adenocarcinom, ein differenziertes Cystadenocarcinom, ein endometroides Ovarialcarcinom.

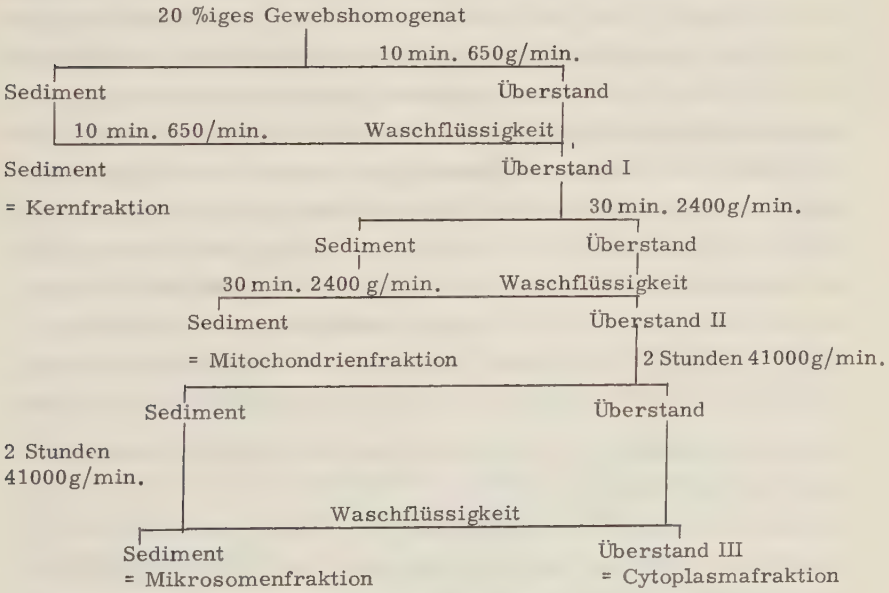
Die Gewebe blieben bis zum Zeitpunkt unserer Untersuchungen bei -20° C eingefroren.

SHONK und BOXER (1964) stellten fest, daß Gewebsblöcke, die schwerer als 100 mg waren, beliebig lange Zeit bei -20° C eingefroren werden konnten, ohne daß feststellbare Aktivitätsverluste auch bei empfindlichen Fermenten auftraten. Unsere Gewebsmengen waren alle größer als 100 mg.

Zur Aufarbeitung des zu untersuchenden Materials gingen wir wie folgt vor:

Nach Angaben von LANG und SIEBERT (1955) stellten wir aus den Geweben, die durch Waschen mit 0,25 molarer Rohrzuckerlösung von Blutresten befreit wurden, 1:5 Homogenate her.

Als Homogenisator benutzten wir den Glashomogenisator nach POTTER-ELVEHJEM, als Suspensionsmittel wurde 0,25 molare, in einer Austauschsäule aus Amberlit entmineralisierte, Rohrzuckerlösung verwendet. Homogenisiert wurde in Eiswasser bei +4° C, nachdem das Feuchtgewicht des Gewebes bestimmt worden war. Um das erhaltene Homogenat von Bindegewebsresten zu trennen, filtrierten wir es durch eine Doppelschicht eines feinmaschigen Spezialtuches. Die so erhaltene Suspension bezeichneten wir als Gesamthomogenat Verdünnung 1:1.
Davon wurde ein Teil zur Aktivitätsbestimmung der Fermente und zur Bestimmung des Stichstoffgehaltes benutzt, vom Rest stellten wir nach folgendem Schema die Zellfraktionen her.



Die Kernfraktion zentrifugierten wir in der Zentrifuge Typ Roto-Silenta ab. Die anderen Zellfraktionen erhielten wir durch Zentrifugieren in der Spinco-Ultrazentrifuge von BECKMANN Modell L mit Rotor Nr. 40.

Die im obigen Fraktionierungsgang erhaltenen Kerne, Mitochondrien und Mikrosomen wurden jeweils in 10 ml eisgekühlter physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und im Eisschrank aufbewahrt. Die vereinigten Überstände ergaben die Cytoplasmafraktion.

Wir bestimmten im Gesamthomogenat und den 4 Zellfraktionen 5 Fermente:

1.) Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
2.) Glutamat-Dehydrogenase
3.) Alkalische Phosphatase
4.) Saure Phosphatase
5.) Aldolase.

Aus technischen und zeitlichen Gründen beanspruchten die Bestimmungen aller Fermente in allen Fraktionen jeweils 2 Tage, so daß nach dem ersten Tag, an dem die ersten beiden Fermente bestimmt wurden, die Substanzen bei -20° C eingefroren, und am folgenden Tag für die restlichen Bestimmungen wieder aufgetaut werden mußten. Diese Arbeitsweise brachte verschieden starke Aktivitätsverluste mit sich. Weiterhin traten durch die relativ lange Aufbewahrungszeit der Suspensionen starke Trübungen auf, so daß die spektrophotometrische Aktivitätsbestimmung besonders in der Gesamthomogenat- und Kernfraktion sehr erschwert wurde. Den Trübungsprozeß während der Aufbewahrungszeit beschrieben schon SHONK und BOXER (1964). Um die störende Trübung zu beheben, gaben wir nach Angaben von BÄSSLER 0,1 ml Triton 4% X-100 zu jedem Bestimmungsansatz.

Die Aktivitätsbestimmung der obigen 5 Fermente erfolgte im Einzelnen nach folgenden Methoden:

1.) Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Gl-6-P-DH) nach modifzierten Angaben von LÖHR und WALLER (1962) gemäß der Testvorschrift in Biochemica Testkombination von Boehringer.

Pro Ansatz wurde gegeben:

0,1	mMol	TRAM ph 7,6
10	µMol	EDTA
1	µMol	NADPH
1,55	µMol	Glucose-6-Phosphat
1	ml	Fermentlösung

Gesamtvolumen 3,15 ml

Vorlaufzeit: 5 min. Temperatur: 25° C. Meßzeit: 3 min. bei einer Wellenlänge von 366 nm.

Jedoch gaben obige Autoren eine Fehlerquote dieser Enzymbestimmung an, da in Zellhomogenaten mit diesem Test auch die Gluconsäure-6-Phosphat-Dehydrogenase miterfaßt wird und damit höhere Werte erhalten werden.

2.) Glutamatdehydrogenase (GLDH): Nach modifizierten Angaben von SCHMIDT (1962) und Testversuchsanleitung in Biochemica Testkombination von Boehringer.

Das Enzym GLDH katalysiert die Gleichgewichtsreaktion:

$$\text{-Ketoglutarat} + NADH_2 + NH_4 \rightarrow \text{Glutamat} + NAD + H_2O.$$

Man mißt die Aktivität der GLDH bei der von links nach rechts ablaufenden Reaktion durch Bestimmung der zeitlichen Abnahme des $NADH_2$.

Pro Ansatz wurde gegeben:

0,1	mMol	TRAM ph 8,0
8	µMol	EDTA
0,32	mMol	Ammoniumacetat
0,6	µMol	NADH
20,5	µMol	Ketoglutarat
1	ml	Fermentlösung

Gesamtvolumen 3,2 ml, Vorlaufzeit: 20 min. Leerwertzeit: 10 min. Meßzeit: 10 min., bei einer Wellenlänge von 366 nm.

Meßtemperatur: 25° C.

3.) Aldolase: Bestimmung nach modifizierten Angaben von BRUNS et al. (1954) und BEISENHERZ et al. (1953), gemäß der Testvorschrift in Biochmica Testkombination von Boehringer.

Das Enzym Aldolase katalysiert die Reaktion:
Fructose-1,6-diphosphorsäure ⇄ Glycerinaldehydrophosphat + Dioxyacetonphosphat.
Die beiden Triosephosphate stehen in enzymatischen, durch Triosephosphat-isomerase katalysiertem Gleichgewicht, das zu 96% auf der Seite von Dioxyacetonphosphat liegt. Zur Bestimmung der Aldolaseaktivität wird die pro Zeiteinheit gebildete Menge Triosephosphate aus Fructose-1,6-diphosphorsäure bestimmt. Dabei wird Dioxyacetonphosphat enzymatisch durch Glycerophosphatdehydrogenase unter Zusatz von NADH hydriert.

Fructose-1,6 diphosphorsäure + 2 $NADH_2$ + 2 H = 2α-glycerophosphat + 2 NAD.
Die Menge des oxydierten $NADH_2$ ist proportional der gespaltenen Menge Fructose-1,6 diphosphorsäure.
Pro Ansatz wurde gegeben:

140	µMol	Collidinpuffer (= Trimethylpyridin) ph 7,4
0,75	µMol	Monojodacetat
7,5	µMol	Fructose, 1,6 diphosphat
1	µMol	NADH
0,02	mg	Glycero-Phosphatdehydrogenase
0,02	mg	Triosephosphatisomerase
0,2	ml	Fermentlösung

Gesamtvolumen: 2,76 ml, Vorlaufzeit: 5 min, Meßzeit: 20 min
Meßtemperatur: 37° C, Wellenlänge: 366 nm.

Da bei der Bestimmung dieser 3 Fermente bei NAD bzw. NADP-Überschuß gearbeitet werden mußte, um optimale Aktivitätsverhältnisse zu erhalten, wurde die Aktivität dieser Fermente in mehreren Verdünnungen der einzelnen Zellfraktionen bestimmt. Liegt eine zu hohe Fermentkonzentration vor, so wird das zugegebene Co-Enzym sofort verbraucht und es entsteht der Eindruck, als sei eine wesentlich niedrigere Fermentkonzentration vorhanden. Es besteht aus Mangel an Co-Enzym keine Proportionalität mehr zwischen dem Co-Enzymverbrauch und der Fermentaktivität. Es wurde in solchen Fällen solange verdünnt, bis optimale Aktivitätsverhältnisse erreicht wurden.

Die Aktivität der drei obigen Enzyme wird in Internationalen Einheiten (I.E.) ausgedrückt, die von der IUB 1961 festgelegt wurden. Danach ist eine I.E. die Enzymmenge, die bei 25° C in einer Minute ein µMol Substrat umsetzt. Gemäß IUB wird die Enzymaktivität auf 1 ml Untersuchungsmaterial bezogen. Die Aktivität der 3 Fermente wurde am Photometer "Eppendorf" gemessen.

4.) Die Bestimmung der Alkalischen Phosphatase lehnt sich in der Methode an Angaben von BESSEY, LOWRY und BROCK (1946) an. Als Substrat wurde das Na-Salz von p-Nitrophenylphosphat verwendet, das farblos ist. Nach Abspaltung des Phosphatrestes entsteht das in alkalischer Lösung gelb gefärbte p-Nitrophenol. Die pro Zeiteinheit freigesetzte Menge p-Nitrophenol ist ein Maß für die Aktivität der alkalischen Phosphatase.
Als Puffer wurde Glycin verwendet, Meßzeit: 30 min, Meßtemperatur: 37° C, Wellenlänge: 405 nm.

5.) Die Bestimmung der Sauren Phosphatase lehnt sich an Angaben von FISHMAN und LERNER (1953) an.

Die alkalische und saure Phosphatase wurde nach Testvorschriften in Biochemica Testkombination von Boehringer bestimmt. Bei der Bestimmung der sauren Phosphatase wurde Citratpuffer ph 4, 8 verwendet, Meßzeit: 30 min, Temperatur: 37° C, Wellenlänge: 405 nm. Als Substrat diente wiederum p-Nitrophenylphosphat. Die pro Zeiteinheit freigesetzte Menge an p-Nitrophenol ist das Maß für die Aktivität der sauren Phosphatase. Die Aktivität beider Phosphatasen wurde am Elektrophotometer von Zeiss, Modell Elko 2 bestimmt.

Die Aktivität der beiden Phosphatasen wurde in mMol Einheiten/mg N nach BESSEY and LOWRY ausgedrückt, wobei eine Phosphataseeinheit die in 1 Liter Homogenat enthaltene Enzymmenge ist, die in 1 Stunde bei 37° C 1 mMol = 140 mg Para-Nitrophenol freisetzt.

Zur Objektivierung der in den Fermentlösungen gefundenen Fermentaktivitäten wurde diese auf 1 mg Stickstoff des Gesamthomogenats bezogen. Wir bestimmten den Stichstoff nach KJELDAHL mit einer von BEET (1955) beschreibenen Modifikation.

C) EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Vorbemerkungen: Zur Bestimmung der drei NAD- bzw. NADP-abhängigen Fermente Aldolase, Glutamatdehydrogenase und Glucose-6-P-Dehydrogenase stellten wir mehrere Verdünnungen her, um nach den obigen Überlegungen optimale Ergebnisse zu erzielen. Nahm z. B. bei einer Verdünnung 1:10 die gemessene Aktivität um etwa das Zehnfache gegenüber den Werten der Ausgangslösung ab, so war dies der Beweis dafür, daß bei optimalen Co-Enzym-Konzentrationen gearbeitet wurde und damit eine Proportionalität zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Enzymaktivität bestand. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird in der pro Zeiteinheit umgesetzten Menge NAD bzw. NADP gemessen. Durch die starke Trübung des Gesamthomogenates und der Kernfraktion konnten hier keine genauen Bestimmungen durchgeführt werden. Die so erhaltenen Meßdaten waren durch den Trübungsprozeß verfälscht und daher nicht verwertbar. Mit Triton X-100 konnten wir in der Gesamthomogenat und Kernfraktion keinen Klärungseffekt erzielen. Dies gelang jedoch an der Mitochondrienfraktion.

Die Höhe der Aktivität im Gesamthomogenat lag bei allen untersuchten Fällen und bei allen drei Fermenten wesentlich niedriger als die Summe der erhaltenen Aktivitäten von Mitochondrien-Mikrosomen- und Cytoplasmafraktion. Dies kann auf folgende Ursachen zurückgeführt werden:

1.) Der sehr empfindliche optische Test mit NAD- bzw. NADP-Umsatz kann durch Trübungsprozesse sehr leicht gestört werden.

2.) SIBLEY und LEHNINGER (1949) berichteten über eine Zerstörung des Co-Enzymes NAD in Organextrakten.

3.) Durch die Aufschlemmung des Organextraktes in 0,25 molarer Rohrzuckerlösung können die Zellorganellen teilweise nicht zum Platzen gebracht werden. Also wird die gesamte Fermentmenge nicht vollständig erfaßt. Diese Vermutung wird durch HOGEBOOM und SCHNEIDER (1953) bestätigt, die in Homogenaten, welche in 0,25 molarer Zuckerlösung aufge-

schlemmt waren, niedrigere Aktivitäten der Glutamatdehydrogenase fanden, als in solchen mit dem Suspensionsmittel Wasser. Die maximale Fermentaktivität fanden sie, nachdem sie das Homogenat durch winzige Öffnungen gepreßt hatten, wobei die Kern- und Mitochondrienmembranen zerplatzten.

Aus diesen Gründen wurde die spezifische Gesamtaktivität bei den oben genannten drei Fermenten aus der Summe der spezifischen Aktivitäten der Mitochondrien-, Mikrosomen- und Cytoplasmafraktion errechnet. Die spezifische Fermentaktivität der Kernfraktion war in allen Fällen sehr niedrig und konnte deshalb vernachlässigt werden.

1.) Ergebnisse der Aldolasebestimmung

Da SHONK und BOXER (1964) eine relativ hohe Stabilität der Aldolase feststellten, wurde dieses Ferment als letztes nach dem Homogenisieren des Gewebes bestimmt. In der Zwischenzeit wurde die Zellfraktion und das Gesamthomogenat bei -20° C eingefroren.
An einem Ovarialcarcinom (Fall III) kann in dieser Arbeit die hohe Stabilität der Aldolase bestätigt werden. Das Gewebe stammte von einer an Krebskachexie verstorbenen Patientin, die erst zirka 24 Stunden post mortem seziert werden konnte.

Aus Tab. 1 ergeben sich folgende Befunde:
Die spezifische Gesamtaktivität der Aldolase von 5 Ovarialcarcinomen ohne praeoperative Behandlung liegt deutlich höher als in den untersuchten normalen Ovarien. Die praeoperativ cytostatisch und radiologisch vorbehandelten malignen Ovarialtumoren zeigten ebenfalls eine hohe spezifische Gesamtaktivität. Jedoch liegt diese im Bereich der unbehandelten malignen Tumoren. Die spezifische Gesamtaktivität der benignen Ovarialtumoren liegt im Bereich normaler Ovarien.

Hinsichtlich der Verteilung der Aldolase auf die drei Zellfraktionen Mitochondrien, Mikrosomen und Cytoplasma wurde nach Tab. 1 folgende Lokalisation gefunden: Die Aldolase konnte in allen drei Zellfraktionen in jedem

Falle nachgewiesen werden. Sie stellte sich in allen Fällen als ein vorwiegend in der Cytoplasmafraktion lokalisiertes Ferment dar.

Tab. 1: Aldolaseaktivität in den einzelnen Zellfraktionen

mg N = Stichstoffgehalt mg/ml Lösung bezogen auf Gesamthomogenat
Akt. = Aktivität m.E./mg N bezogen auf Gesamthomogenat
A: = Unbehandelte Adenocarcinome

Fall I:	Stickstoff		Aldolase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,15	100	-	-
Kerne	0,15	13	-	-
Mitochondrien	0,09	8	23	9,3
Mikrosomen	0,11	9,6	15	6,3
Cytoplasma	0,76	66,1	208	84,4
Errechnetes Gesamthomogenat	1,11	96,7	246	100

Fall II:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,64	100	-	-
Kerne	0,26	15,7	-	-
Mitochondrien	0,38	23,1	8	7,5
Mikrosomen	0,25	15,2	11	10,2
Cytoplasma	1,1	67	88	82,3
Errechnetes Gesamthomogenat	1,99	121,3	107	100

Fall III:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,16	100	-	-
Kerne	0,3	25,8	-	-
Mitochondrien	0,18	15,4	29	16,6
Mikrosomen	0,037	3,2	17	9,7
Cytoplasma	0,83	71,6	129	73,7
Errechnetes Gesamthomogenat	1,347	116	175	100

Fall IV:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,31	23	-	-
Mitochondrien	0,1	7,4	53	28,1
Mikrosomen	0,03	2,2	11	5,8
Cytoplasma	0,63	46,6	125	66,1
Errechnetes Gesamthomogenat	1,07	79,2	189	100

Fall V:	Stickstoff		Aldolase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,7	100	-	-
Kerne	0,42	25,3	-	-
Mitochondrien	0,34	20	21	9,0
Mikrosomen	0,3	17,6	4	1,1
Cytoplasma	0,42	25,3	213	89,9
Errechnetes Gesamthomogenat	1,48	88,2	238	100

B: Behandelte Ovarialcarcinome

Fall VI:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,22	16,3	-	-
Mitochondrien	0,17	12,0	5	5,2
Mikrosomen	0,06	4,5	12	12,4
Cytoplasma	0,68	50,4	80	82,4
Errechnetes Gesamthomogenat	1,13	83,2	97	100

Fall VII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,15	100	-	-
Kerne	0,23	10,7	-	-
Mitochondrien	0,28	13	66	19,4
Mikrosomen	0,015	0,7	3	0,96
Cytoplasma	1,5	69,8	272	79,7
Errechnetes Gesamthomogenat	2,025	94,2	341	100

Fall VIII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,3	100	-	-
Kerne	0,29	22,3	-	-
Mitochondrien	0,094	7,2	11	5,5
Mikrosomen	0,065	5,0	10	4,9
Cytoplasma	0,665	51,2	184	89,6
Errechnetes Gesamthomogenat	1,114	85,7	205	100

Fall IX:	Stickstoff		Aldolase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,2	100	-	-
Kerne	0,33	15	-	-
Mitochondrien	0,31	14,1	15	11,6
Mikrosomen	0,074	3,3	1	0,76
Cytoplasma	1,44	65,4	116	87,8
Errechnetes Gesamthomogenat	2,154	97,8	132	100

C: Benigne Ovarialtumoren

Fall X:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,75	100	-	-
Kerne	0,135	18	-	-
Mitochondrien	0,05	6,7	13,5	10,2
Mikrosomen	0,03	4	3	2,1
Cytoplasma	0,6	80	116	87,6
Errechnetes Gesamthomogenat	0,815	108,7	132,5	100

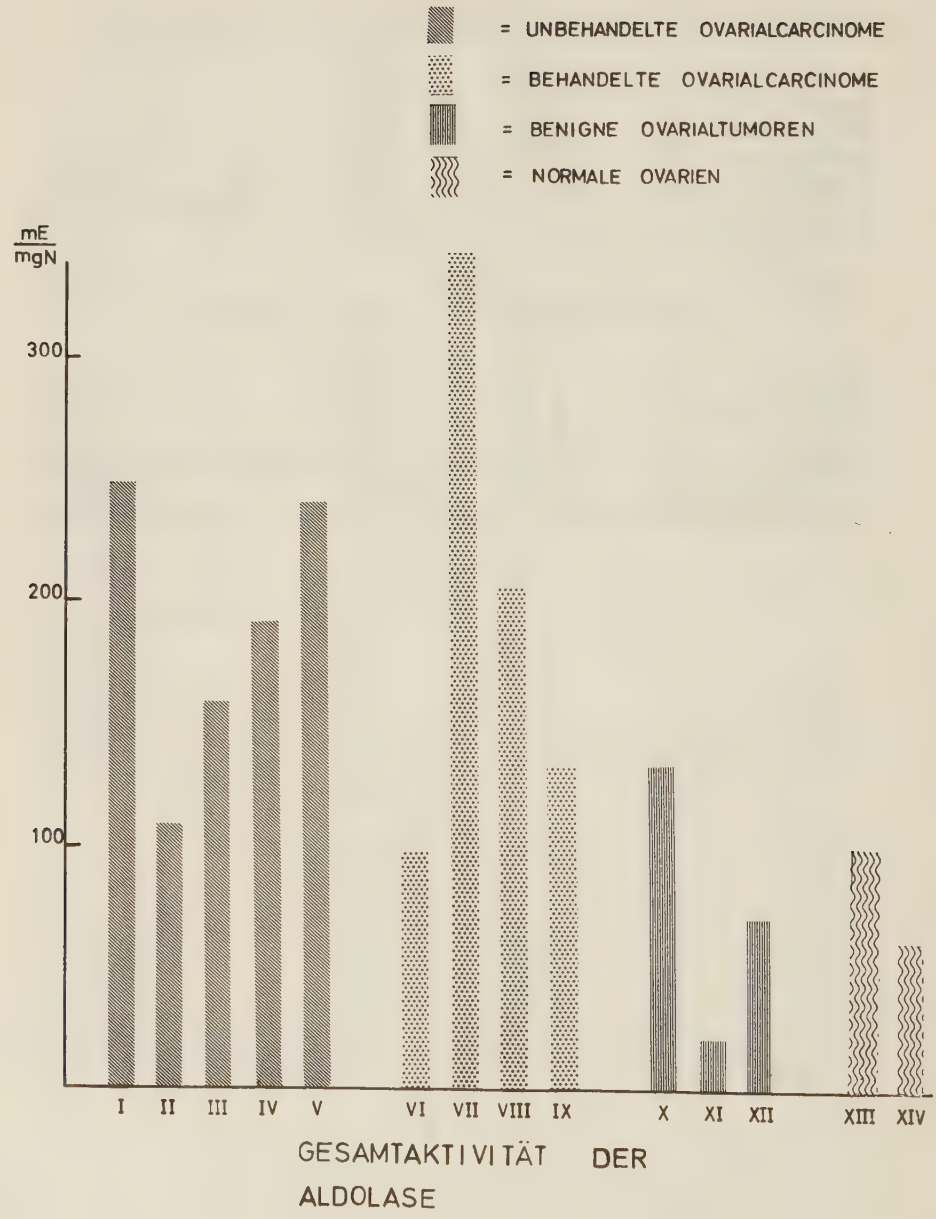
Fall XI:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,87	100	-	-
Kerne	0,22	25,3	-	-
Mitochondrien	0,22	25,3	4	19,5
Mikrosomen	0,04	4,6	1	4,5
Cytoplasma	0,4	46	16	76
Errechnetes Gesamthomogenat	0,88	101,2	21	100

Fall XII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,9	100	-	-
Kerne	0,04	2,1	-	-
Mitochondrien	0,09	4,7	5	7,1
Mikrosomen	0,05	2,6	9	12,9
Cytoplasma	1,26	66,3	56	80
Errechnetes Gesamthomogenat	1,44	75,7	70	100

D: Normale Ovarien

Fall XIII:	Stickstoff		Aldolase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,79	100	-	-
Kerne	0,08	10,1	-	-
Mitochondrien	0,06	7,6	5	5
Mikrosomen	0,02	2,5	2	2
Cytoplasma	0,7	88,6	91	93
Errechnetes Gesamthomogenat	0,86	108,8	98	100

Fall XIV:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,89	100	-	-
Kerne	0,04	4,5	-	-
Mitochondrien	0,11	12,3	3	5
Mikrosomen	0,085	9,5	3	5
Cytoplasma	0,7	78,6	52	90
Errechnetes Gesamthomogenat	0,935	104,9	58	100



GESAMTAKTIVITÄT DER ALDOLASE

Besprechung der Ergebnisse: Die Aldolase zählt zu den glykolytischen Fermenten der Zelle. Seit durch Warburg die gesteigerte aerobe Glycose als bedeutende Energiequelle der Tumoren bezeichnet wurde, erhielt die Aldolase zunehmende Bedeutung in der Biochemie der Tumoren. WARBURG u.a. berichteten schon 1924 über eine erhöhte anaerobe und aerobe Glycolyse in menschlichem Carcinomgewebe bei gleichzeitig herabgesetzter Zellatmung. 1925 wurden diese Ergebnisse an Rattentumoren bestätigt. Dabei zog WARBURG auch den Vergleich zum embryonalen Gewebe. Letzteres ging bei Sauerstoffmangel zugrunde, das Carcinomgewebe nicht. Am embryonalen Gewebe fand sich nur eine hohe anaerobe Glycolyse. NEGELEIN 1925 veröffentlichte hohe glykolytische Aktivitäten junger Hühnerembryonen. Er stellte die Vermutung auf, daß sich Tumoren aus stark glykolysierenden Zellen entwickelten. Gleichzeitig stellte er eine hohe aerobe Glykolyse in der Netzhaut des Auges fest. FRISCH und WILLHEIM (1936) zeigten, daß CHINON die Glykolyse von Normalgewebe zwar einschränkte, aber nicht die von Tumoren. Tumorkochsäfte konnten die Chinonwirkung auf Normalgewebe aufheben. Durch Zusatz von Tumorkochsäften zu normalem Gewebe ließ sich dort eine Glykolysesteigerung erzielen. WARBURG und CHRISTIAN (1943) fanden im abführenden Blut von Rattentumoren deutlich erhöhte Milchsäure- und Aldolasewerte gegenüber dem zuführendem Blut. Weiterhin fanden sie eine Proportionalität zwischen Tumorgewicht und Aldolaseaktivität. An tumorkranken Menschen konnten sie dies nicht bestätigen, da erst eine Erhöhung der Serumaldolase an Ratten feststellbar war, wenn das Tumorgewicht mindestens 2% des Körpergewichtes betrug. SIBLEY and LEHNINGER (1949 und 1955) bestätigten die Erhöhung der Serumaldolase an tumorkranken Ratten. Nach Entfernung des Tumors fanden sie eine Normalisierung des Aldolasespiegels. Gegenüber Normalgewebe stellten sie einen leicht erhöhten Aldolasegehalt fest, der aber die starke Erhöhung der Aldolase im Serum nicht begründete. Im Serum krebskranker Menschen fanden sie keine significante Aldolaseerhöhung. WARBURG und HIEPLER (1952) fanden im Ascitesserum bei Ascitestumoren von Mäusen einen erhöhten Aldolasegehalt, der sich unter anaeroben Bedingungen erhöhte. BAKER and GOVAN (1953) wiesen bei der Mehrzahl der Patienten

mit fortgeschrittenem Prostatacarcinom einen erhöhten Aldolasespiegel im Serum nach. REIF u.a. (1953) fanden eine erniedrigte oxidative Capazität in Tumoren von Ratten und Mäusen bei erhöhter Glykose. HILL and LEVI (1954) veröffentlichten erhöhte LDH-Konzentrationen im Serum krebskranker Menschen. WARBURG u.a. (1954) stellte eine Aufnahme von Aldolase durch Ascitestumorzellen bei Mäusen nach Zugabe von Glucose fest. SIBLEY and FLEISHER (1955) fanden in 23 menschlichen Adenocarcinomen des Colon und Rectum einen erhöhten Aldolasegehalt gegenüber dem Normalgewebe. An tumorkranken Ratten fanden sie eine Abgabe von Aldolase durch den Tumor an die Umgebung bei Glucosemangel. WARBURG u.a. (1956) fanden an maligne entarteten Mäusezellen eine Proportionalität zwischen dem Ausmaß der Glykolyse und der Malignität der Tumoren. WARBURG (1956) bezeichnete die Schädigung der Zellatumung als primäre Ursache der Krebsentstehung, aus der zur Deckung des Energiebedarfs der Zelle eine gesteigerte Glycolyse folgen müsse. De ROETTH (1957) untersuchte 51 Ovarialcarcinome. Er stellte bei den papillär-serösen Adenocarcinomen eine Proportionalität zwischen Malignität und Milchsäureproduktion fest. Bei den Pseudomucincystomen bestand dieser Zusammenhang nicht. WHITE (1958) veröffentlichte uncharakteristische und stark schwankende Konzentrationen glycolytischer Enzyme im Serum Krebskranker. Nach starker Eiweißzufuhr fand er ein Absinken dieser Enzyme, ausgenommen bei Patienten mit Lebermetastasen. CAMURI u.a. (1959) fanden histochemisch erhöhte Aldolase- und LDH-Konzentrationen im neoplastischen Gewebe des Uterus. MERTEN und SOLBACH (1961) untersuchten glykolytische Enzyme im Plasma Krebskranker und fanden außer der LDH kein glykolytisches Enzym im Serum significant erhöht. FERRARIO et FUMAGALLI (1961) fanden keinen statistisch erfaßbaren Unterschied in der Aktivität der Serumaldolase bei benignen und malignen Ovarialtumoren. Bei 40% der Ovarialcarcinome lag der Aldolasespiegel im Serum deutlich über der Norm. BÄR u.a. (1963) stellten in menschlichen Tumoren eine Erhöhung der glykolytischen Enzyme fest. CAREDDU (1963) fand histochemisch in 3 Ovarialcarcinomen gegenüber dem normalen Ovar eine beträchtliche Steigerung der Aldolaseaktivität. MENTASTI et PECORARI (1964) veröffentlichten hohe

Aktivitäten der Aldolase in der Ascitesflüssigkeit carcinomkranker Patienten. KLEINE (1965) fand im Portio-, Rectum-, Magen- und Bronchialcarcinom gegenüber dem normalen Gewebe eine deutlich erhöhte Aldolaseaktivität. Er fand einen Zusammenhang zwischen der Aldolaseaktivität und der Aktivität der Glucose-Dehydrogenase. JUNG (1966) fand gegenüber dem Normalovar eine verminderte Aldolaseaktivität im Ovarialcarcinom. Besonders niedere Aldolaseaktivitäten beschrieb er in einem Granulosazelltumor des Ovars. JUNG et al. (1967) fanden in Ovarialtumoren und Ascites erhöhte LDH-Aktivitäten. Weiterhin stellten sie eine Zunahme der unter anaeroben Bedingungen vorkommenden Isoenzyme der LDH fest. Mit Ausnahme von JUNG (1966) bestätigten sämtliche Autoren die eigenen Ergebnisse. Sie fanden eine verstärkte aerobe Glycolyse und Aldolaseaktivität im Carcinomgewebe.

Die hier gefundene, deutlich erhöhte Aldolaseaktivität im Ovarialcarcinom kann als ein Zeichen erhöhter glycolytischer Aktivität im Carcinomgewebe verstanden werden. Die histologisch unterschiedlichen malignen Ovarialtumoren unterscheiden sich nicht wesentlich in ihrer Aldolaseaktivität, so daß sich daraus keine neuen diagnostischen Gesichtspunkte ergeben. Nach BLACK u.a. (1949) läßt sich die Glycolyse maligner Tumoren des Darmes, des Corpus-, Ovarial- und Pancreascarcinoms durch glykolytische Hemmsubstanzen wie Fluoride nicht herabsetzen. BAKER and GOVAN (1953) berichteten über eine Senkung des erhöhten Aldolasespiegels im Serum bei Prostatacarcinom nach erfolgreicher hormonaler Therapie. SIEBLEY et al. (1955) fanden eine Senkung des Aldolasespiegels im Serum nach cytostatischer Behandlung von Rattentumoren. KERTÉSZ und ALBANO (1955) stellten nach Gabe von Polyphenoloxidase eine Senkung der Glycolyse in Mäusetumoren fest. Die cytostatisch mit 3 gr Endoxan und Radiumröntgenbestrahlung vorbehandelten Ovarialcarcinome, die hier untersucht wurden, zeigten gegenüber den unbehandelten Ovarialcarcinomen keine Minderung der spezifischen Gesamtaktivität der Aldolase. Die vorbehandelten Carcinome lagen in ihrer Aktivität noch wesentlich höher als die normalen Ovarien. Es kann daraus kein deutlicher Effekt der obigen Carcinomtherapie auf die gesteigerte glycolytische Aktivität der Tumoren abgeleitet

werden. Die hier gefundene Verteilung der Aldolase auf die 3 Zellfraktionen Mitochondrien, Mikrosomen und Cytoplasma entspricht in allen Fällen der eines Fermentes des cytoplasmatischen Raumes. SIELBERT (1961) wies sämtliche glycolytischen Enzyme in isolierten Zellkernen nach. Er fand die Aldolase in dieser Zellfraktion in sehr hoher spezifischer Aktivität. OMNIS und CAREDDU (1962) stellten in einer histochemischen Arbeit an weiblichen Genitalorganen die höchste Aldolaseaktivität in den Zellkernen fest.
FRÖSNER (1966) fand die höchst spezifische Aldolaseaktivität in fraktionierten Corpora-lutea-Extrakten von Schweineovarien in den Mitochondrien.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der oben genannten Autoren konnten wir die Aldolase in allen Fällen vorwiegend in der Cytoplasmafraktion nachweisen. Auch ergab sich kein Unterschied in der Aldolaseverteilung auf die einzelnen Zellfraktionen zwischen Ovarialcarcinomen und normalen Ovarien.

Auffallend ist die unterschiedlich hohe Aktivität der Aldolase in den beiden untersuchten normalen Ovarien. Da beide Ovarien von Frauen im fortpflanzungsfähigen Alter stammen, liegt die Hypothese nahe, daß die Aktivität der Aldolase in ihrer Intensität zyklusabhängig ist.

2.) Ergebnisse der Glutamatdehydrogenase (GLDH)-Bestimmung

Die GLDH ist nach Ergebnissen verschiedener Autoren ein relativ stabiles Ferment. SCHMIDT, E. und SCHMIDT, F.W. (1962) fanden nach 48 Stunden einen Verlust der GLDH-Aktivität im Serum von 5%, wenn das Serum bei 3° C aufbewahrt wurde. FILIPPA (1963) beobachtete bei Aufbewahrung von Seren unter Temperaturen von 0 bis 4° C nach 48 Stunden keinen Aktivitätsverlust. AMELUNG et al. (1966) fanden in Seren, die bei 4° C aufbewahrt wurden, nach 24 Stunden keinen Aktivitätsverlust der GLDH. Die GLDH wurde in der vorliegenden Arbeit immer 5 - 6 Stunden nach dem Homogenisieren bestimmt. In der Zwischenzeit wurden die Fermentlösun-

gen bei 4° C aufbewahrt, so daß ohne größere Aktivitätsverluste gearbeitet werden konnte.

Aus Tab. 2 ergeben sich für die spezifische Gesamtaktivität der GLDH folgende Befunde:
Die unbehandelten Ovarialcarcinome zeigen eine relativ hohe spezifische Gesamtaktivität der GLDH im Vergleich zu der normaler Ovarien und der benigner Ovarialtumoren. Auffallend ist die sehr niedrige spezifische Gesamtaktivität eines malignen unbehandelten Granulosazelltumores (Fall V), die im Bereich der normaler Ovarien liegt.

Die praeoperativ cytostatisch und radiologisch behandelten Ovarialcarcinome lagen in ihrer spezifischen Gesamtaktivität etwas niedriger als die unbehandelten Ovarialcarcinome. Auffallend ist die hohe spezifische Gesamtaktivität eines unreifen, soliden Adenocarcinoms (Fall VII) im Vergleich zu den anderen vorbehandelten Ovarialcarcinomen.

Außer der benignen Struma ovarii liegt die spezifische Gesamtaktivität der untersuchten benignen Ovarialtumoren im Bereich der noramler Ovarien. Die spezifische Gesamtaktivität der Struma ovarii (Fall XII) liegt deutlich höher als die der anderen benignen Ovarialtumoren.

Betrachtet man die Höhe der GLDH-Aktivität in den drei Zellfraktionen Mitochondrien, Mikrosomen und Cytoplasma, so ergibt sich folgendes:
Die GLDH ist vorwiegend in der Mitochondrienfraktion und im Cytoplasma lokalisiert.

Bei den unbehandelten Ovarialcarcinomen fand sich immer die höchste GLDH-Aktivität in der Mitochondrienfraktion. Eine Ausnahme macht der maligne Granulosazelltumor, bei dem die höchste Aktivität dieses Fermentes im Cytoplasma festgestellt wurde. Bei den praeoperativ behandelten Ovarialcarcinomen konnten auch hohe Aktivitäten der GLDH im Cytoplasma nachgewiesen werden.

Bei den benignen Ovarialtumoren zeigte sich eine ähnliche Verteilung der GLDH über die einzelnen Zellfraktionen wie bei den normalen Ovarien. Nur in der Struma ovarii konnte die höchste GLDH-Aktivität eindeutig in den Mitochondrien nachgewiesen werden.

Die beiden untersuchten normalen Ovarien zeigten etwa gleich hohe Aktivitäten der GLDH in der Cytoplasma- und Mitochondrienfraktion.

Die Mikrosomenfraktion zeigte in allen untersuchten Geweben nur geringe Aktivitäten der GLDH.

Tab. 2: Aktivität der Glutamat-Dehydrogenase in den einzelnen Zellfraktionen
mg N = Stickstoffgehalt mg/ml Lösung bezogen auf Gesamthomogenat
Akt. = Aktivität mE/mg N bezogen auf das Gesamthomogenat

A: Unbehandelte Adenocarcinome

Fall I:	Stickstoff		GLDH	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,15	100	-	-
Kerne	0,15	13	-	-
Mitochondrien	0,09	8	137	89
Mikrosomen	0,11	9,6	9	5,8
Cytoplasma	0,76	66,1	8	5,2
Errechnetes Gesamthomogenat	1,11	96,7	154	100

Fall II:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,64	100	-	-
Kerne	0,26	15,7	-	-
Mitochondrien	0,38	23,1	20	62,5
Mikrosomen	0,25	15,2	7	21,8
Cytoplasma	1,1	67	5	15,7
Errechnetes Gesamthomogenat	1,99	121,3	32	100

Fall IV:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,31	23	-	-
Mitochondrien	0,1	7,4	83	74,8
Mikrosomen	0,03	2,2	12	10,8
Cytoplasma	0,63	46,6	16	14,4
Errechnetes Gesamthomogenat	1,07	79,2	111	100

Fall V:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,7	100	-	-
Kerne	0,42	25,3	-	-
Mitochondrien	0,34	20	7	26,9
Mikrosomen	0,3	17,6	0	0
Cytoplasma	0,42	25,3	19	73,1
Errechnetes Gesamthomogenat	1,48	88,2	26	100

B: Behandelte Ovarialcarcinome

Fall VI:	Stickstoff		GLDH	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,22	16,3	-	-
Mitochondrien	0,17	12	4	26,7
Mikrosomen	0,06	4,5	2	13,3
Cytoplasma	0,68	50,4	9	60
Errechnetes Gesamthomogenat	1,13	83,2	15	100

Fall VII:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,15	100	-	-
Kerne	0,23	10,7	-	-
Mitochondrien	0,28	13	46	30
Mikrosomen	0,015	0,7	3	2
Cytoplasma	1,5	69,8	106	68
Errechnetes Gesamthomogenat	2,025	94,2	155	100

Fall VIII:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,3	100	-	-
Kerne	0,29	22,3	-	-
Mitochondrien	0,094	7,2	23	88,5
Mikrosomen	0,065	5,0	3	11,5
Cytoplasma	0,665	51,2	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	1,114	85,7	26	100

Fall IX:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,2	100	-	-
Kerne	0,33	15	-	-
Mitochondrien	0,31	14,1	23	63,9
Mikrosomen	0,074	3,3	2	5,6
Cytoplasma	1,44	65,4	11	30,5
Errechnetes Gesamthomogenat	2,154	97,8	36	100

C: Benigne Ovarialtumoren

Fall X:	Stickstoff		GLDH	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,75	100	-	-
Kerne	0,135	18	-	-
Mitochondrien	0,05	6,7	13	44,8
Mikrosomen	0,03	4	4	13,8
Cytoplasma	0,6	80	12	41,4
Errechnetes Gesamthomogenat	0,815	108,7	29	100

Fall XI:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,87	100	-	-
Kerne	0,22	25,3	-	-
Mitochondrien	0,22	25,3	3,5	46,6
Mikrosomen	0,04	4,6	2	26,7
Cytoplasma	0,4	46	2	26,7
Errechnetes Gesamthomogenat	0,88	101,2	7,5	100

Fall XII:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,9	100	-	-
Kerne	0,04	2,1	-	-
Mitochondrien	0,09	4,7	57	86,3
Mikrosomen	0,05	2,6	4	6,1
Cytoplasma	1,26	66,3	5	7,4
Errechnetes Gesamthomogenat	1,44	75,7	66	100

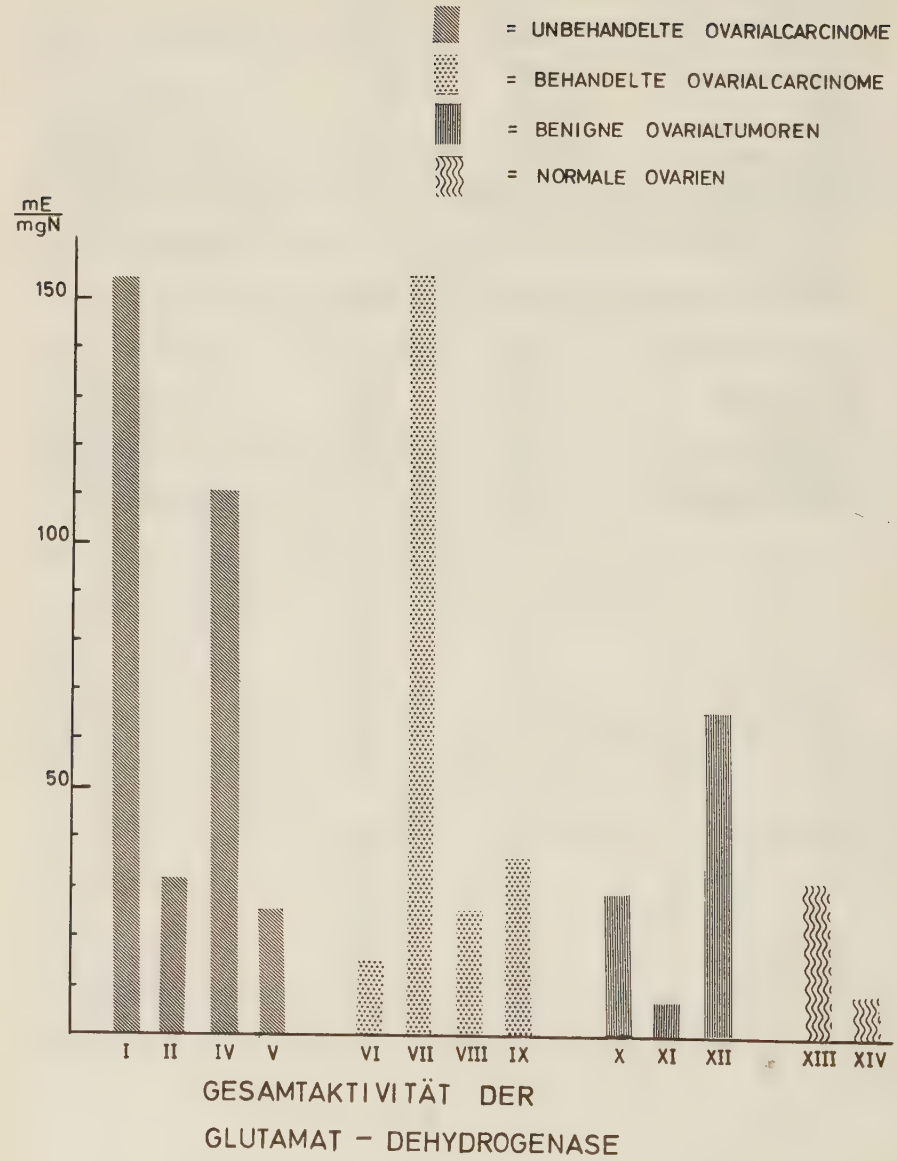
D: Normale Ovarien

Fall XIII:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,79	100	-	-
Kerne	0,08	10,1	-	-
Mitochondrien	0,06	7,6	12	37,5
Mikrosomen	0,02	2,5	7	21,8
Cytoplasma	0,7	88,6	13	40,7
Errechnetes Gesamthomogenat	0,86	108,8	32	100

Fall XIV:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,89	100	-	-
Kerne	0,04	4,5	-	-
Mitochondrien	0,11	12,3	4	44,4
Mikrosomen	0,085	9,5	0	0
Cytoplasma	0,7	78	5	55,6
Errechnetes Gesamthomogenat	0,935	104,9	9	100



GESAMTAKTIVITÄT DER
GLUTAMAT – DEHYDROGENASE

Besprechung der Ergebnisse: Die GLDH stellt ein Verbindungsglied zwischen dem Citronensäurezyklus und dem Aminosäurestoffwechsel dar. Da sie sowohl die Bildung von Glutaminsäure aus Alphaketoglutarsäure, wie auch die umgekehrte Reaktion katalysiert, spielt sie im Stoffwechsel der Carcinomzelle vermutlich eine bedeutende Rolle. SCHMIDT, E. und SCHMIDT, F.W. (1962) fanden besonders hohe GLDH-Konzentrationen in der Leber. Dies kann als Bestätigung der wichtigen Aufgabe der GLDH im Aminosäurestoffwechsel betrachtet werden. 1959 stellten sie eine starke Verminderung der GLDH in der Leber bei der akuten Hepatitis fest. MIDER (1951) ist der Meinung, daß ein wachsender Tumor dem Gesamtorganismus Stickstoff entziehe und diesen in seine Zellsubstanz einbaue. Er stellte an tumorkranken Ratten eine verstärkte N-Abgabe an das Blut fest, ohne daß dieser verstärkt ausgeschieden wurde. POTTER (1951) bezeichnete die Krebszelle als "nitrogen trap". In ihr sei die Stickstoffaufnahme nicht gleich der Abgabe, wie dies in der Normalzelle der Fall sei. Die Krebszelle nehme zwar laufend Stickstoff auf, gebe aber keinen ab. SAUBERLICH und BAUMANN (1951) konnten alle 18 tierischen Aminosäuren in Rattentumoren nachweisen. Die Glutaminsäure fand sich dabei immer in der höchsten Konzentration. Le PAGE and POTTER et alii (1952) fanden nach Implantation eines Sarkoms in hungernde Ratten eine Gewichtsabnahme der Tiere bei gleichzeitigem Wachstum des Tumors. Sie schlossen daraus, daß der Eiweißstoffwechsel in Tumoren nur in der Syntheserichtung verlaufe, und kein Eiweißabbau in ihnen erfolge.

HEINLEIN (1930) untersuchte tierische und menschliche Carcinome auf ihre Fähigkeit, Methylenblau und andere chemische Substanzen zu reduzieren. Er fand im Vergleich zu normalen Organen in den malignen Tumoren eine verminderte Reduktionsfähigkeit. Gegenüber normalen Geweben fanden LENTA und RIEHL (1949) verminderte Aktivitäten von MDH und LDH in Tumoren. HOELSCHER (1950) fand in Geweben, deren Mitose durch Gifte wie Stickstofflost blockiert war, eine Hemmung der Dehydrogenasen. WENNER und andere (1952) wiesen in transplantierten Mäuse- und Rattentumoren alle Enzyme des Citronensäurecyklus nach. Die Aktivität der Alphaketoglutarsäuredehydrogenase und der Aconitase waren aber nur in

sehr niedrigen Konzentrationen nachweisbar. WAISMANN et al. (1956) stellten in Leukozyten bei Leukaemie und Krebserkrankungen eine Erhöhung der GLDH fest. Dabei war die gefundene Aktivität häufig um ein Mehrfaches höher als in den Leukozyten gesunder Patienten. DELBRÜCK et al. (1959) fanden in experimentellen Mäuse- und Rattentumoren verminderte Aktivitäten der Malatdehydrogenase. KLEINE (1965) wies im Magen- und Bronchialcarcinom verminderte Aktivitäten der GLDH nach.

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Ergebnisse stehen teilweise im Widerspruch zu den Befunden der oben zitierten Autoren. Die GLDH-Aktivität war in einem unbehandeltem malignen Granulosazelltumor niedrig. In einem papillären Adenocarcinom, das praeoperativ nicht behandelt wurde, fanden sich ebenfalls niedrige Aktivitäten der GLDH. Dies steht im Einklang zu den Befunden von KLEINE (1965) an anderen Tumoren. Jedoch steht die deutliche Erhöhung der GLDH in zwei unbehandelten Adenocarcinomen des Ovars im Widerspruch dazu. Dies entspricht wieder mehr den Ergebnissen von WAISMANN (1956) an Leukocyten krebskranker Patienten.

Bei den praeoperativ cytostatisch und radiologisch vorbehandelten Ovarialcarcinomen zeigten drei Fälle Aktivitäten der GLDH, die im Bereich derjenigen von normalen Ovarien liegen.
Eine Ausnahme macht ein unreifes Adenocarcinom des Ovars (Fall VII), das eine deutlich erhöhte Aktivität der GLDH zeigte.

Nach diesen Ergebnissen muß die Wirkung der cytostatischen und radiologischen Carcinombehandlung auf die GLDH-Aktivität noch weiter abgeklärt werden. WENNER (1952) fand eine Verminderung der Aktivität der α-Ketoglutarsäuredehydrogenase, was für die Theorie einer Erhöhung der GLDH in malignen Tumoren spräche. Wird die α-Ketoglutarsäure durch die GLDH zu Glutaminsäure umgewandelt, so kann sie nicht mehr im Citronensäurecyklus abgebaut werden. Die durch HÖLSCHER (1950) beobachtete Hemmung der Dehydrogenasen durch Mitosegifte, zu denen auch Cytostatika zu zählen sind, könnte für eine Verminderung der GLDH-Aktivität in den vorbehandelten Carcinomen sprechen.

Die erhöhte Aktivität der GLDH in der Struma ovarii könnte mit einer intensiven Proteinsynthese in dieser teratoiden Geschwulst erklärt werden.

Betrachtet man die Verteilung der GLDH auf die einzelnen Zellfraktionen, so findet man Unterschiede zwischen den einzelnen Tumoren.

Nur die unbehandelten Ovarialcarcinome zeigten eine eindeutige Lokalisation der GLDH in der Mitochondrienfraktion. In allen anderen untersuchten Fällen ist die GLDH-Aktivität auch in der Cytoplasmafraktion hoch, so daß nach den Ergebnissen der eigenen Arbeit die GLDH nicht als ein ausgesprochen in den Mitochondrien lokalisiertes Ferment bezeichnet werden kann. HOOGEBOOM und SCHNEIDER (1953) wiesen 70% der GLDH-Aktivität normaler Gewebe in den Mitochondrien nach. Ca. 30% fanden sie in den Kernen. DELBRÜCK et al. (1959) untersuchten Leberhomogenate und konnten die GLDH bevorzugt in den Mitochondrien nachweisen. BÄR et al. (1963) fanden fast die gesamte GLDH-Aktivität menschlicher Tumoren in den Mitochondrien.

Die Befunde der oben genannten Autoren können in der eigenen Arbeit nicht eindeutig bestätigt werden, zumal auch in den beiden untersuchten normalen Ovarien die Cytoplasmafraktion reich an GLDH war. BERGER (1965) untersuchte elektronenmikroskopisch Krebszellen von Mammacarcinomen. Er fand dort die Zahl der Mitochondrien relativ vermindert. Ihre Innenstruktur war gegenüber Mitochondrien normaler Zellen verändert. Dieser Befund spricht mehr für einen verminderten Gehalt des Mitochondrienenzyms GLDH in Carcinomgewebe.

Auffallend ist die unterschiedliche Aktivität der GLDH in den beiden normalen Ovarien, wie sie schon bei der Bestimmung der Aldolaseaktivität erwähnt wurde. Dies läßt wieder vermuten, daß die Fermentaktivität der Ovarien zyklusabhängig ist.

3.) Ergebnisse der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-bestimmung

Die Gl-6-P-DH wird auch als Warburgsches Zwischenferment bezeichnet. Sie dehydriert Glucose-6-Phosphat zu Gluconsäure-6-Phosphat und überträgt den abgespaltenen Wasserstoff auf NADP. Damit ist sie das Schlüsselferment des Pentose-Phosphat-Zyklus. Durch die Decarboxylierung von Gluconsäure-6-Phosphat entstehen die Pentosen, die in allen Necleosiden des Körpers enthalten sind.
Sie sind daher von großer Bedeutung für die DNS- und RNS-Synthese und für die Bildung von NAD und NADP in der Zelle. Vor allem die sich sehr rasch teilende Krebszelle benötigt daher viele Pentosen.

Die Glucose kann im Pentose-Phosphat-Zyklus abgebaut werden, wobei der glykolytische Abbau umgangen wird. Daher wird viel reduziertes NADPH gewonnen, das wiederum zur Fettsäuresynthese benötigt wird. In der Leberzelle wird ein großer Teil der Glucose über den Pentose-Phospat-Zyklus abgebaut.

Der Pentose-Phosphat-Zyklus dient aber nicht der Energiegewinnung. Dazu müßte der Wasserstoff von NADP auf NAD übertragen werden, denn nur so kann über die Atmungskettenphosphorylierung ATP gewonnen werden. Die hierzu notwendige Transhydrogenase kommt in der normalen Zelle kaum vor. WILLIAMS-ASHMANN (1953) konnte sie auch in Mäusetumoren nicht nachweisen.

Da nach Angaben von LÖHR und WALLER (1962) die Glucose-6-P-Dehydrogenase ein sehr instabiles Ferment ist, wurde sie sofort nach dem Homogenisieren und Zentrifugieren bestimmt.

Nach Tab. 3 ergeben sich für die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase folgende Aktivitäten in den verschiedenen Geweben:

Die unbehandelten und praeoperativ vorbehandelten Ovarialcarcinome zeigten eine erhöhte Aktivität der Gl-6-P-DH gegenüber den normalen Ovarien. Auffallend ist die sehr hohe Aktivität des Enzyms in einem unreifen, soliden Adenocarcinom (Fall VII), das praeoperativ cytostatisch und radiologisch vorbehandelt wurde.

Die Aktivität der Glucose-6-P-DH in den untersuchten benignen Ovarialtumoren liegt im Bereich der normaler Ovarien.

Betrachtet man die Verteilung der Glucose-6-P-DH auf die einzelnen Zellfraktionen, so ergibt sich ein eindeutig im cytoplasmatischen Raum lokalisiertes Ferment. Diese vorwiegende Lokalisation des Fermentes im Cytoplasma fand sich in allen untersuchten Geweben.

Tab. 3: Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in den einzelnen Zellfraktionen
mg N = Stickstoffgehalt mg/ml Lösung bezogen auf Gesamthomogenat
Akt. = Aktivität mE/mg N bezogen auf Gesamthomogenat

A: Unbehandelte Adenocarcinome

Fall I:	Stickstoff		Gl-6-P-DH	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,15	100	-	-
Kerne	0,15	13	-	-
Mitochondrien	0,09	8	67	27,7
Mikrosomen	0,11	9,6	24	9,9
Cytoplasma	0,76	66,1	151	62,4
Errechnetes Gesamthomogenat	1,11	96,7	242	100

Fall II:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,64	100	-	-
Kerne	0,26	15,7	-	-
Mitochondrien	0,38	23,1	6	8,2
Mikrosomen	0,25	15,2	2	2,7
Cytoplasma	1,1	67	65	89,1
Errechnetes Gesamthomogenat	1,99	121,3	73	100

Fall IV:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,31	23	-	-
Mitochondrien	0,1	7,4	2	4,2
Mikrosomen	0,03	2,2	3	6,4
Cytoplasma	0,63	46,6	42	89,4
Errechnetes Gesamthomogenat	1,07	79,2	47	100

Fall V:	Stickstoff		Gl-6-P-DH	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,7	100	-	-
Kerne	0,42	25,3	-	-
Mitochondrien	0,34	20	59	38,1
Mikrosomen	0,3	17,6	23	14,8
Cytoplasma	0,42	25,3	73	47,1
Errechnetes Gesamthomogenat	1,48	88,2	155	100

B: Behandelte Ovarialcarcinome

Fall VI:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,15	100	-	-
Kerne	0,23	10,7	-	-
Mitochondrien	0,28	13	268	17,3
Mikrosomen	0,015	0,7	15	0,9
Cytoplasma	1,5	69,8	1270	81,8
Errechnetes Gesamthomogenat	2,025	94,2	1553	100

Fall VII:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,3	100	-	-
Kerne	0,29	22,3	-	-
Mitochondrien	0,094	7,2	37	20,4
Mikrosomen	0,065	5,0	7	3,8
Cytoplasma	0,665	51,2	138	75,8
Errechnetes Gesamthomogenat	1,114	85,7	182	100

Fall VIII:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,2	100	-	-
Kerne	0,33	15	-	-
Mitochondrien	0,31	14,1	14	9,9
Mikrosomen	0,074	3,3	0	0
Cytoplasma	1,44	65,4	127	90,1
Errechnetes Gesamthomogenat	2,154	97,8	141	100

C: Benigne Ovarialtumoren

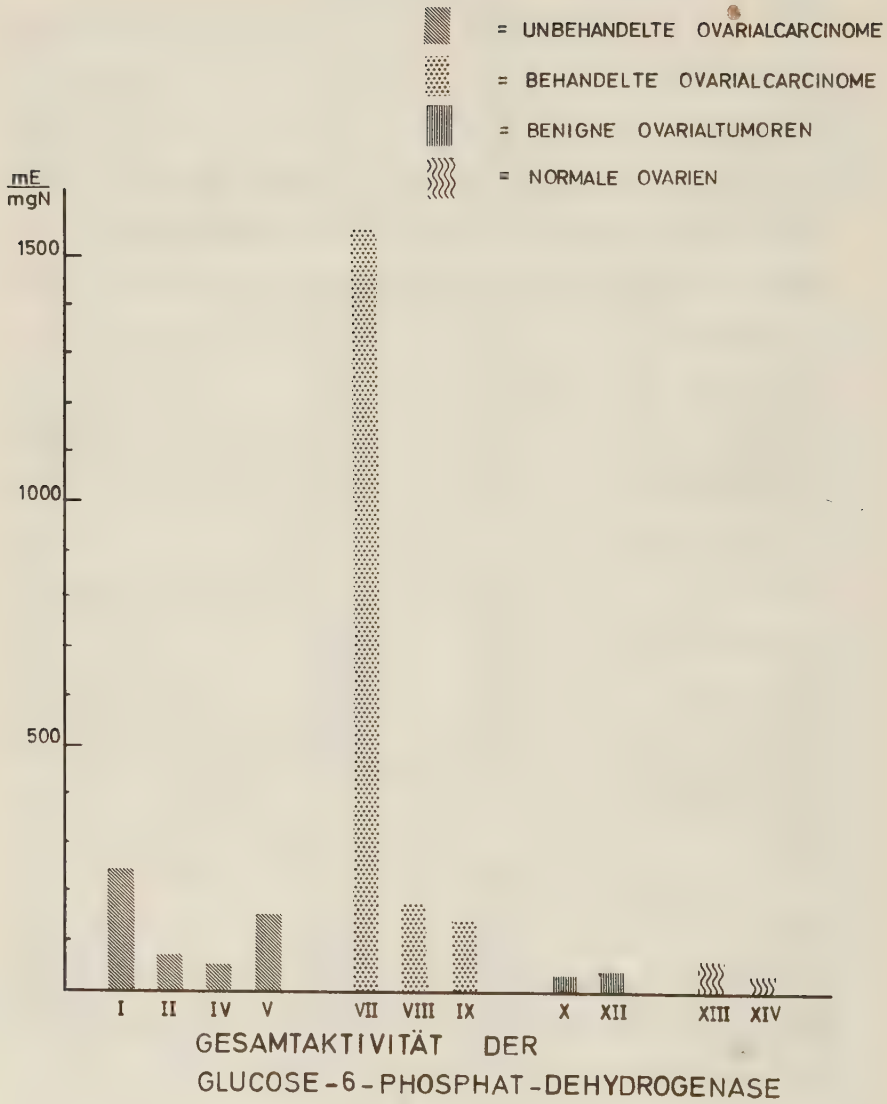
Fall IX:	Stickstoff		Gl-6-P-DH	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,75	100	-	-
Kerne	0,135	18	-	-
Mitochondrien	0,05	6,7	1	3,4
Mikrosomen	0,03	4	0	0
Cytoplasma	0,6	80	30	96,6
Errechnetes Gesamthomogenat	0,815	108,7	31	100

Fall X:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,9	100	-	-
Kerne	0,04	2,1	-	-
Mitochondrien	0,09	4,7	7,5	18,1
Mikrosomen	0,05	2,6	1	2,4
Cytoplasma	1,26	66,3	33	79,5
Errechnetes Gesamthomogenat	1,44	75,7	41,5	100

D: Normale Ovarien

Fall XI:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,79	100	-	-
Kerne	0,08	10,1	-	-
Mitochondrien	0,06	7,6	10	15,9
Mikrosomen	0,02	2,5	5	7,9
Cytoplasma	0,7	88,6	48	76,2
Errechnetes Gesamthomogenat	0,86	108,8	63	100

Fall XII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,89	100	-	-
Kerne	0,04	4,5	-	-
Mitochondrien	0,11	12,3	3	9,4
Mikrosomen	0,085	9,5	0	0
Cytoplasma	0,7	78,6	29	90,6
Errechnetes Gesamthomogenat	0,935	104,9	32	100



GESAMTAKTIVITÄT DER
GLUCOSE-6-PHOSPHAT-DEHYDROGENASE

Besprechung der Ergebnisse: WILLIAMS-ASHMANN (1953) untersuchte die Gl-6-P-DH, die Gluconsäure-6-P-Dehydrogenase und die Isocitronensäure-Dehydrogenase in Ascitestumoren von Mäusen. Er wies für die ICDH und die PGDH etwa gleich hohe Aktivitäten nach. Die Aktivität der Gl-6-P-DH war etwa halb so hoch, wie die der beiden anderen Fermente. GLOCK und MAC LEAN (1954) wiesen die Gluc-6P-DH und die PGDH in transplantierten Mäusetumoren nach. Die Aktivität der beiden Fermente entsprach etwa der normaler Gewebe. DELBRÜCK u. a. (1959) fanden am Uterusepitheliom und anderen Mäuse- und Rattentumoren Aktivitätsverhältnisse der Gl-6-P-DH, PGDH und andere Fermente wie in der Leber. SCHMIDT, E., SCHMIDT, F. W. und WILDHIRT (1959) wiesen eine durch die Mitochondrienschädigung der Leberzellen bei Hepatitis bedingte Intensivierung des Pentose-P-Cyklus nach. Sie fanden hohe Aktivitäten der Gl-6-P-DH und der PGDH. MERTEN und SOLBACH (1961) stellten im Serum gesunder und krebskranker Menschen keinen Unterschied in der Konzentration der Gl-6-P-DH und der PGDH fest. BÄR, SCHMIDT, E. und SCHMIDT, F. W. (1963) untersuchten 33 Tumoren und die entsprechenden Normalgewebe von Menschen. Sie fanden die Gl-6-P-DH und die PGDH in diesen Tumoren deutlich erhöht gegenüber den entsprechenden Normalgeweben.

In der vorliegenden Arbeit konnte in den malignen Tumoren eine erhöhte Aktivität der Gl-6-P-DH nachgewiesen werden. Dies entspricht den Befunden von BÄR und SCHMIDT. Da die sich häufig teilende Krebszelle einen erhöhten Bedarf an Pentosen zur RNS-, und DNS-Synthese der Cofermente DPN und TPN haben muß, ist damit die erhöhte Aktivität dieses Fermentes gegenüber dem Normalgewebe erklärbar.

Auffallend ist die sehr hohe Aktivität der Glucose-6-P-DH in einem cytostatisch und radiologisch vorbehandelten Adenocarcinom (Fall VII). Ob dies eine therapiebedingte Stoffwechseländerung ist, muß einer weiteren Abklärung überlassen bleiben. Bislang gibt es in der Literatur für eine ähnliche Beobachtung keine Hinweise.

Nach GLOCK (1964) kommt die Glucose-6-P-DH bevorzugt im Cytoplasma vor. Die in der eigenen Arbeit gefundenen Ergebnisse bestätigen dies. Die Mikrosomenfraktion erwies sich als sehr arm an diesem Ferment.

Wie schon bei der Beschreibung der Ergebnisse der beiden vorausgegangenen Fermente fällt auch hier die unterschiedlich hohe Aktivität in den beiden normalen Ovarien auf. Die Frage einer zyklusabhängigen Fermentkonzentration muß in einer weiteren Arbeit abgeklärt werden.

4.) Ergebnisse der Phosphatasebestimmung

Vorbemerkung: Die Phosphatasen sind Esterasen, die Phosphorsäure hydrolytisch von Nucleotiden, Phosphatiden und den Zuckerphosphorsäuren abspalten. Die Veresterung von Phosphorsäuren katalysieren sie nicht.
Die Phosphatasen unterteilen sich in viele Isoenzyme, die zwar gleiche Substratspezifität besitzen, aber ihr Wirkungsoptimum bei verschiedenen ph haben. So entstehen die beiden Gruppen der alk. und der sauren Phosphatasen, von denen sich jede wiederum in mehrere Isoenzyme aufteilen läßt.
In der vorliegenden Arbeit wurden die p-Nitrophenyl-PO_4 spaltenden Phosphatasen bestimmt. Für die Bestimmung der Phosphatasen gibt es mehrere Methoden, die mit verschiedenen Substraten arbeiten. Der hier verwendete Test weist als Schnelltest die gleiche Genauigkeit wie die anderen Methoden auf. Bislang gibt es allerdings keine Untersuchungen dafür, ob mit den verschiedenen Testsubstraten immer dieselben Phosphatasen erfaßt werden. Die bisher verwendeten Substrate sind alle zellfremde Phosphorsäureester, so auch das p-Nitrophenyl-PO_4.
SÜDHOF u.a. (1962) verglichen die verschiedenen Methoden zur Bestimmung der alk. Phosphatase miteinander. Sie stellten fest, daß die dabei erhaltenen verschiedenen Einheiten dieser Phosphataseaktivitäten fehlerlos ineinander umgerechnet werden können. Bei dem Vergleich der verschiedenen Methoden der sauren Phosphatasebestimmung ließen sich die unterschiedlichen Einheiten nicht fehlerfrei ineinander umrechnen.
Sehr reich an alk. Phosphatase ist die Darmschleimhaut, die Niere und der Knochen. In der Prostata kommt eine sehr aktive saure Phosphatase vor. Bislang wurde eine Erhöhung der alk. Phosphatase im Serum bei Knochenerkrankungen, die mit einer gesteigerten Osteoblastentätigkeit einhergehen, bei Rachitis und beim Stauungsicterus festgestellt. Die saure Phosphatase

findet sich bei Prostataerkrankungen im Serum erhöht.
Wie bei den NAD bzw. NADP-abhängigen Enzymen beschrieben, ergaben sich bei der Phosphatasebestimmung im Gesamthomogenat ähnliche Schwierigkeiten. Die dort gefundenen spezifischen Aktivitäten der sauren und alk. Phosphatase lagen in jedem Fall wesentlich niedriger als die Summe der spezifischen Aktivitäten der Kern-Mitochondrien- Mikrosomen- und Cytoplasmafraktion. Da es sich hier um einen Farbtest handelt, kann die Trübung des Gesamthomogenats für diesen Aktivitätsunterschied nicht ausschlaggebend sein. Jedoch ist es möglich, daß die an Zellstrukturen und Zellorganellen gebundenen Phosphatasen im Gesamthomogenat nicht voll erfaßt wurden, weil durch Aufschlemmung des Gewebsextraktes in 0,25 molarer Rohrzuckerlösung die Kerne und Mitochondrien nicht zum Platzen gebracht worden waren. Wegen der relativ geringen Aktivität der Phosphatase im Gesamthomogenat konnten diese Ergebnisse nicht verwertet werden. Daher wurde die spezifische Gesamtaktivität aus der Summe der spezifischen Aktivitäten der 4 Zellfraktionen errechnet.
Aus zeitlichen Gründen konnten die beiden Phosphatasen erst etwa 24-27 Stunden nach dem Homogenisieren bestimmt werden. In der Zwischenzeit wurden die Fermentlösungen bei -20° C eingefroren. Nach Erfahrungen von E. KIDESS (1960) erfolgte weder durch Einfrieren noch durch Alterung der Fermentlösung eine Aktivierung der Phosphatasen. Bei beiden Maßnahmen stellte er einen Aktivitätsverlust dieser Fermente fest. LINHARDT u.a. (1962) untersuchten die Stabilität der alk. Serumphophatasen. Die alk. Phosphatase erwies sich bei 20° C als sehr stabil. EISFELD (1963) stellte eine große Instabilität der sauren Phosphatase bei Zimmertemperatur fest. Nach DAVISON (1953) besitzt die saure Phosphatase im eingefrorenen Serum eine hohe Stabilität. Nach den hier angeführten Ergebnissen anderer Autoren dürfte die obige Aufbewahrungsmaßnahme der Fermentlösungen zu keinen bemerkenswerten Aktivitätsverlusten der Phosphatasen geführt haben.

Ergebnisse der Phosphatasebestimmung: Entsprechend den Tabellen 4 und 5 ergeben sich für die alkalische und saure Phosphatase in den verschiedenen Geweben folgende Aktivitäten.

Die spezifische Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase ist in den malignen unbehandelten und praeoperativ behandelten Ovarialtumoren deutlich erhöht. Die höchste Aktivität fand sich in dem praeoperativ nicht behandelten Granulosazelltumor (Fall V).

Im Vergleich zur alkalischen Phosphatase war die saure Phosphatase in allen Geweben in wesentlich geringerer Aktivität nachweisbar. Jedoch fand sich in den malignen Ovarialtumoren eine deutliche Erhöhung gegenüber dem normalen Ovar. Auffallend ist auch hier die besonders hohe Aktivität des praeoperativ nicht behandelten Granulosazelltumors (Fall V). Auch das praeoperativ cytostatisch und radiologisch behandelte endometroide Ovarialcarcinom (Fall IX) zeigte eine relativ hohe Aktivität der sauren Phosphatase.

Die spezifische Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase in den benignen Ovarialtumoren lag etwas höher als in den normalen Ovarien. Der gleiche Befund konnte bei der sauren Phosphatase erhoben werden. Das normale Ovar war extrem arm an saurer Phosphatase.

Betrachtet man die Verteilung der alkalischen Phosphatase auf die Zellfraktionen Kerne, Mitochondrien, Mikrosomen und Cytoplasma, so zeigte die Mitochondrien- und Cytoplasmafraktion besonders hohe Aktivitäten dieses Fermentes. Bei den praeoperativ vorbehandelten Ovarialcarcinomen war auch die Mikrosomenfraktion relativ reich an alkalischer Phosphatase. Ähnliche Verhältnisse fanden sich in den normalen Ovarien.

Die saure Phosphatase war in den malignen Ovarialtumoren und in der Struma ovarii bevorzugt in der Kernfraktion lokalisiert. In dem Cystadenoma serosum (Fall XI) fand sich die höchste Aktivität dieses Fermentes in den Mitochondrien. Bei dem untersuchten normalen Ovar lag die gesamte Aktivität der sauren Phosphatase in der Mikrosomenfraktion. Das Cytoplasma war bei allen untersuchten Geweben sehr arm an saurer Phosphatase. Eine Ausnahme davon machen zwei praeoperativ vorbehandelte Ova-

rialcarcinome, bei denen sich eine relativ hohe Aktivität der sauren Phosphatase im Cytoplasma fand (Fall VII und IX).

Tab. 4: Aktivität der alkalischen Phosphatase in den einzelnen Zellfraktionen
mg N = Stickstoffgehalt mg/ml Lösung bezogen auf Gesamthomogenat
Akt. = Aktivität mMolE/mg N bezogen auf Gesamthomogenat

A: Unbehandelte Adenocarcinome

Fall I:	Stickstoff		Alk. Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,15	100	-	-
Kerne	0,15	13	1,8	11,0
Mitochondrien	0,09	8	4,4	26,8
Mikrosomen	0,11	9,6	3,8	23,1
Cytoplasma	0,76	66,1	6,4	39,1
Errechnetes Gesamthomogenat	1,11	96,7	16,4	100

Fall II:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,64	100	-	-
Kerne	0,26	15,7	1,0	3,2
Mitochondrien	0,38	23,1	10,3	32,4
Mikrosomen	0,25	15,2	5,0	15,7
Cytoplasma	1,1	67,0	15,5	48,7
Errechnetes Gesamthomogenat	1,99	121,3	31,8	100

Fall IV:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,31	23	0,2	1,2
Mitochondrien	0,1	7,4	4,5	28,4
Mikrosomen	0,03	2,2	3,0	18,8
Cytoplasma	0,63	46,6	8,2	51,6
Errechnetes Gesamthomogenat	1,07	79,2	15,9	100

Fall V:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,7	100	-	-
Kerne	0,42	25,3	9,3	20,0
Mitochondrien	0,34	20,0	20,0	43
Mikrosomen	0,3	17,6	12,0	25,9
Cytoplasma	0,42	25,3	5,2	11,1
Errechnetes Gesamthomogenat	1,48	88,2	46,5	100

B: Behandelte Ovarialcarcinome

Fall VI:	Stickstoff		Alk. Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,22	16,3	0,02	0,6
Mitochondrien	0,17	12,0	0,4	15,2
Mikrosomen	0,06	4,5	0,8	30,6
Cytoplasma	0,68	50,4	1,4	53,6
Errechnetes Gesamthomogenat	1,13	83,2	2,6	100

Fall VII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,15	100	-	-
Kerne	0,23	10,7	0,07	0,3
Mitochondrien	0,28	13	21	80,2
Mikrosomen	0,015	0,7	2,8	10,7
Cytoplasma	1,5	69,8	2,3	8,8
Errechnetes Gesamthomogenat	2,025	94,2	26,17	100

Fall VIII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,3	100	-	-
Kerne	0,29	22,3	6,5	25,1
Mitochondrien	0,094	7,2	14	54,1
Mikrosomen	0,065	5,0	3,8	14,6
Cytoplasma	0,665	51,2	1,6	6,2
Errechnetes Gesamthomogenat	1,114	85,7	25,9	100

Fall IX:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,2	100	-	-
Kerne	0,33	15	2,0	18,5
Mitochondrien	0,31	14,1	2,6	24,4
Mikrosomen	0,074	3,3	2,4	22,5
Cytoplasma	1,44	65,4	3,7	34,6
Errechnetes Gesamthomogenat	2,154	97,8	10,7	100

C: Benigne Ovarialtumoren

Fall X:	Stickstoff		Alk. Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,75	100	-	-
Kerne	0,135	18	0,3	10,3
Mitochondrien	0,05	6,7	0,4	13,7
Mikrosomen	0,03	4,0	0,2	7,0
Cytoplasma	0,6	80,0	2,0	69,0
Errechnetes Gesamthomogenat	0,815	108,7	2,9	100

Fall XI:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,87	100	-	-
Kerne	0,22	25,3	0,2	5,9
Mitochondrien	0,22	25,3	2,2	64,5
Mikrosomen	0,04	4,6	0,5	14,8
Cytoplasma	0,4	46,0	0,5	14,8
Errechnetes Gesamthomogenat	0,88	101,2	3,4	100

Fall XII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,9	100	-	-
Kerne	0,04	2,1	0,1	3,3
Mitochondrien	0,09	4,7	1,5	50,0
Mikrosomen	0,05	2,6	0,4	13,3
Cytoplasma	1,26	66,3	1,0	33,4
Errechnetes Gesamthomogenat	1,44	75,7	3,0	100

D: Normale Ovarien

Fall XIII:	Stickstoff		Alk. Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,79	100	-	-
Kerne	0,08	10,1	0,09	5,6
Mitochondrien	0,06	7,6	0,9	56,6
Mikrosomen	0,02	2,5	0,6	37,8
Cytoplasma	0,7	88,6	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	0,86	108,8	1,59	100

Fall XIV:	Stickstoff		Alk. Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,89	100	-	-
Kerne	0,04	4,5	0	0
Mitochondrien	0,11	12,3	0,7	25,0
Mikrosomen	0,085	9,5	1,5	53,5
Cytoplasma	0,7	78,6	0,6	21,5
Errechnetes Gesamthomogenat	0,935	104,9	2,8	100

Tab. 5: Aktivität der sauren Phosphatase in den einzelnen Zellfraktionen
mg N = Stickstoffgehalt mg/ml Lösung bezogen auf Gesamthomogenat
Akt. = Aktivität mMolE/mg N bezogen auf Gesamthomogenat

A: Unbehandelte Adenocarcinome

Fall I:	Stickstoff		Saure Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,15	100	-	-
Kerne	0,15	13	0,7	58,3
Mitochondrien	0,09	8	0,04	16,7
Mikrosomen	0,11	9,6	0,1	8,3
Cytoplasma	0,76	66,1	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	1,11	96,7	1,2	100

Fall II:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,64	100	-	-
Kerne	0,26	15,7	0,2	83,3
Mitochondrien	0,38	23,1	0,04	16,7
Mikrosomen	0,25	15,2	0	0
Cytoplasma	1,1	67,0	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	1,99	121,3	0,24	100

Fall IV:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,31	23	0,9	88,2
Mitochondrien	0,1	7,4	0,1	9,8
Mikrosomen	0,03	2,2	0,02	2,0
Cytoplasma	0,63	46,6	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	1,07	79,2	1,02	100

Fall V:	Stickstoff		Saure Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,7	100	-	-
Kerne	0,42	25,3	1,9	76,0
Mitochondrien	0,34	20,0	0,6	24,0
Mikrosomen	0,3	17,6	0	0
Cytoplasma	0,42	25,3	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	1,48	88,2	2,5	100

B: Behandelte Ovarialcarcinome

Fall VI:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,35	100	-	-
Kerne	0,22	16,3	0,02	50,0
Mitochondrien	0,17	12,0	0,02	50,0
Mikrosomen	0,06	4,5	0	0
Cytoplasma	0,68	50,4	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	1,13	83,2	0,04	100

Fall VII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,15	100	-	-
Kerne	0,23	10,7	0,07	9,1
Mitochondrien	0,28	13,0	0	0
Mikrosomen	0,015	0,7	0	0
Cytoplasma	1,5	69,8	0,7	90,9
Errechnetes Gesamthomogenat	2,025	94,2	0,77	100

Fall VIII:				
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,3	100	-	-
Kerne	0,29	22,3	1,6	100
Mitochondrien	0,094	7,2	0	0
Mikrosomen	0,065	5,0	0	0
Cytoplasma	0,665	51,2	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	1,114	85,7	1,6	100

Fall IX:	Stickstoff		Saure Phosphatase	
	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	2,2	100	-	-
Kerne	0,33	15,0	1,8	61,6
Mitochondrien	0,31	14,1	0,1	3,5
Mikrosomen	0,074	3,3	0,02	0,7
Cytoplasma	1,44	65,4	1,0	34,2
Errechnetes Gesamthomogenat	2,154	97,8	2,92	100

C: Benigne Ovarialtumoren

Fall XI:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,87	100	-	-
Kerne	0,22	25,3	0,1	25,0
Mitochondrien	0,22	25,3	0,3	75,0
Mikrosomen	0,04	4,6	0	0
Cytoplasma	0,4	46,0	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	0,88	101,2	0,4	100

Fall XII:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	1,9	100	-	-
Kerne	0,04	2,1	0,3	50,0
Mitochondrien	0,09	4,7	0,1	16,7
Mikrosomen	0,05	2,6	0	0
Cytoplasma	1,26	66,3	0,2	33,3
Errechnetes Gesamthomogenat	1,44	75,7	0,6	100

D: Normale Ovarien

Fall XIV:

	mg N	%	Akt.	%
Gesamthomogenat	0,89	100	-	-
Kerne	0,04	4,5	0	0
Mitochondrien	0,11	12,3	0	0
Mikrosomen	0,085	9,5	0,08	100
Cytoplasma	0,7	78,6	0	0
Errechnetes Gesamthomogenat	0,935	104,9	0,08	100

= UNBEHANDELTE OVARIALCARCINOME
= BEHANDELTE OVARIALCARCINOME
= BENIGNE OVARIALTUMOREN
= NORMALE OVARIEN
mMolE
mgN
3
2
1
I II IV V VI VII VIII IX XI XII XIV
GESAMTAKTIVITÄT DER
SAUREN PHOSPHATASE
mMolE
mgN
50
40
30
20
10
I II IV V VI VII VIII IX X XI XII XIII XIV
GESAMTAKTIVITÄT DER
ALKALISCHEN PHOSPHATASE

Besprechung der Ergebnisse der Phosphatasebestimmung:

ALBER (1938) fand bei Patienten mit Carcinom, Icterus, Magen-Darmgeschwüren und Lungentb. erhöhte Phosphataseaktivitäten im Serum. GUSBERG and ATKINSON (1949) wiesen histochemisch eine Proportionalität zwischen Östrogenproduktion und Aktivität der alk. Phosphatase im Endometrium nach. In Adenocarcinomen des Uterus fanden sie eine umgekehrte Proportionalität zwischen der Malignität des Tumors und der Phosphataseaktivität. In anaplastischen Tumoren konnten sie keine Phosphataseaktivität nachweisen. PEARSON and RICHARDSON (1952) fanden histochemisch sehr unterschiedliche Aktivitäten der alk. Phosphatase in verschiedenen transplantierten Mäusetumoren. Bei 2 malignen Tumortypen konnten sie hohe Aktivitäten der alk. Phosphatase nachweisen, wobei das Ferment nur in den Tumorzellen lokalisiert war. GENESI (1953) wies histochemisch die alk. Phosphatase im Parenchym des Ovars nach. FORD und HIRSCHMANN (1955) konnten zwischen Zyklusphasen des Ovars und der Aktivität der alk. Phosphatase im Ovar keinen Zusammenhang feststellen. ALAMANNI (1956) fand im Collum-Carcinom nur in den Hornperlen alk. Phosphatase. LOVOTTI (1956) fand im Gegensatz zu GUSBERG und ATKINSON (1949) im proliferierenden und hyperplastischen Endometrium und im Adenocarcinom des Uterus eine hohe Aktivität der alk. Phosphatase. GOLDBERG and JONES jr. (1956) stellten ansteigende Aktivitäten der sauren Phosphatase in den Drüsen des Endometriums während des Zyklusverlaufes fest. Sie fanden im atrophischen Endometrium und im Adenocarcinom des Uterus sehr geringe Aktivitäten der sauren Phosphatase. Zu ähnlichen Ergebnissen kam JASZMANN (1960) histochemisch und biochemisch. Er konnte in der Sekretionsphase einen Abfall der alk. Phosphatase und einen Anstieg der sauren Phosphatase nachweisen. KRÍŽ (1956) wies in den metaplastischen Epithelien von Cervixpolypen eine hohe Aktivität der alk. Phosphatase nach. Bei einem Cervixcarcinom konnte er keine Aktivität der alk. Phosphatase im Epithel des Tumors nachweisen. Dagegen fand er ein phosphatasepositives Struma. Umgekehrte Verhältnisse fand er bei einem Corpuscarcinom. In den Epithelien von Kystomen und Kystadenomen fand er hohe Aktivitäten der alk. Phosphatase.

IGARASHI (1957) konnte den einzelnen Wachstumsstadien des Corpuscarcinoms keine entsprechend ansteigenden Werte der Phosphatasen zuordnen. GROPP u.a. (1956) konnte histochemisch in einem epidermoiden Cervixcarcinom alk. Phosphatase nachweisen. In einem histologisch ähnlichen Larynxcarcinom fand sich keine Aktivität der alk. Phosphatase. ARVY (1960) fand die höchsten Aktivitäten der alk. Phosphatase in den Corpora lutea normaler Ovarien.

KAWAKATSU und MORI (1963) wiesen histochemisch hohe Aktivitäten alk. Phosphatase im Stroma epithelialer Tumoren nach. Die Stärke dieser Aktivität war in verschiedenen epithelialen Tumoren unterschiedlich. In den Krebszellen wurde nur vereinzelt alk. Phosphatase nachgewiesen. Die Aktivität der sauren Phosphatase war relativ schwach. LEVINE (1963) fand in Übereinstimmung mit GUSBERG (1949) und im Gegensatz zu LOVOTTI (1956) im proliferierenden Endometrium hohe Aktivitäten der alk. Phosphatase. Im Adenocarcinom des Uterus wies er eine umgekehrte Proportionalität zwischen Malignität und Aktivität der alk. Phosphatase nach. JUNG (1966) veröffentlichte eine hohe Aktvität der sauren Phosphatase und eine geringere der alk. Phosphatase in einem Granulosazelltumor des Ovars. Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Aktivitätsverhältnisse der alk. Phosphatase widersprechen den Ergebnissen von GUSBERG and ATKINSON (1949) und denen von LEVINE (1963) an Adenocarcinomen des Uterus. Sie stimmen mit denjenigen von LOVOTTI (1956) überein.

Entsprechend GOLDBERG and JONES (1956) und KAWAKATSU (1963) konnten in dieser Arbeit in den malignen Ovarialtumoren relativ geringe Aktivitäten der sauren Phosphatase nachgewiesen werden. Jedoch scheint auch das normale Ovarialgewebe arm an saurer Phosphatase zu sein. Die relativ hohe Aktivität der sauren Phosphatase in dem malignen Granulosazelltumor entspricht den Ergebnissen von JUNG (1966). Dagegen fanden wir im Granulosazelltumor eine wesentlich höhere Aktivität der alk. Phosphatase.

Die unbehandelten und die praeoperativ vorbehandelten Ovarialcarcinome zeigten keine nennenswerten Aktivitätsunterschiede bezüglich der Phosphataseaktivitäten. Es fällt nur die sehr niedrige Aktivität beider Phos-

phatasen in einem praeoperativ behandelten, schleimbildenden Adenocarcinom des Ovars (Fall VI) auf. Ob dies eine therapiebedingte Hemmung des Enzyms ist, konnte nicht aufgeklärt werden.

IGARASHI (1957) fand nach der operativen Entfernung von Corpuscarcinomen oder nach deren Radium- oder Röntgenbestrahlung ein Absinken der Serumphosphatase in den meisten Fällen.
GENESI (1953) wies histochemisch die alk. Phosphatase in neoplastischen Zellen von Ovarialtumoren im Cytoplasma und in den Kernen nach.
ALAMANNI (1956) fand histochemisch im Endometrium die alk. Phosphatase bevorzugt in den Zellkernen, in geringerem Maße auch im Cytoplasma. In den Zellen des Collumcarcinoms fand er eine variable Verteilung dieses Fermentes in der Zelle. GROPP (1958) wies die alk. Phosphatase histochemisch bevorzugt an den Zellgrenzen von gezüchteten, menschlichen Carcinomzellen nach. Im Cytoplasma fanden sich wenige fibrilläre und granuläre Strukturen phosphatasepositiv.
E. KIDESS (1960) wies biochemisch 65% der Phosphataseaktivität von Schweinovarien im Cytoplasma, 20% in den Mitochondrien nach.
REITH und andere (1964) fanden biochemisch 20% der Gesamtaktivität der sauren Phosphatase in den Mitochondrien, 40% in den Mikrosomen und 40% im Cytoplasma. JUNG (1966) fand die Phosphatasen bevorzugt in den Mitochondrien, Mikrosomen und im Cytoplasma lokalisiert. Die Kerne waren relativ phosphatasearm.

Die in der vorliegenden Arbeit gefundene bevorzugte Lokalisation der alk. Phosphatase in der Mitochondrien- und Cytoplasmafraktion bestätigt die Ergebnisse von E. KIDESS (1960) an Schweinovarien und von G. JUNG (1966) ebenfalls an Schweineovarien. Auch in der eigenen Arbeit konnten nur geringe Aktivitäten der alkalischen Phosphatase in der Kernfraktion nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zu REITH (1964) und JUNG (1966) konnten wir die saure Phosphatase bevorzugt in der Kernfraktion lokalisieren. Auffallend war an unseren Ergebnissen die ausschließliche Lokalisation der sauren Phosphatase in der Mikrosomenfraktion beim normalen Ovar. Leider

stand uns zur Bestimmung nur ein normales Ovar zur Verfügung, so daß dieser Befund nicht überprüft werden konnte.

D) ZUSAMMENFASSENDE BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die in dieser Arbeit untersuchten fünf Fermente konnten in allen zur Verfügung stehenden Ovarialtumoren und ebenso in den normalen Ovarien nachgewiesen werden. Dabei fanden sich quantitative Unterschiede der Fermentaktivitäten von teilweise beträchtlicher Höhe zwischen den Neoplasmen, den benignen Tumoren und normalen Ovarien.

Nach C.G. SCHMIDT (1955) ist bislang noch keine Stoffwechselreaktion des normalen Gewebes bekannt, die ein maligner Tumor nicht auch durchführen könnte. Nach WARBURG ist die hohe aerobe und anaerobe Glykolyse die hervorstechendste Eigenschaft aller malignen Tumoren. Dabei ist die Sauerstoffaufnahme dieser Gewebe ebenso hoch wie die normaler Gewebe, so daß die Krebszelle ihren erhöhten Energiebedarf zum großen Teil aus der Glykolyse und nicht wie das normale Gewebe durch die Oxidation bestreitet. Diese von WARBURG beschriebene hohe Glykolyse tierischer Tumoren wurde von vielen anderen Autoren bestätigt.

In der Folgezeit erfuhr auch der Citronensäurezyklus und der gesamte oxidative Stoffwechsel eine intensive Bearbeitung. POTTER (1946) veröffentlichte sehr niedrige Aktivitäten der Malat-dehydrogenase und der Cytochrom-c-Reduktase in Lebertumoren von Tieren. 1951 bestätigte POTTER die geringe Aktivität der Cytochrom-c-Reduktase in malignen Tumoren von Mäusen und Ratten. Eine Verminderung dieses Fermentes würde zu einer Anhäufung von NADH führen, das dann in vermehrtem Maße Brenztraubensäure zu Milchsäure reduzieren könnte.

Die Enzyme des Citronensäurecyklus wurden von POTTER (1951), von WENNER (1952) und anderen nachgewiesen. Im Vergleich zu normalen Zellen fanden WENNER und andere in tierischen Tumorzellen sehr niedrige Aktivitäten für Aconitase und Alpha-keto-glutarsäure-Dehydrogenase.

KIELLEY (1952) wies die oxidative Phosphorilierung in Lebertumoren von Mäusen nach. Jedoch fand er eine ausgeprägte Labilität des phosphorilierenden Systems. Nach Zugabe von NAD zu Tumormitochondrien steigerte sich die Oxidation erheblich. WENNER et al. (1953) fanden ebenfalls eine Aktivierung des oxidativen Stoffwechsels von Mäusetumoren nach Zugabe von NAD. Beide Autoren stellten fernerhin eine erhöhte NAD-Abgabe der Tumormitochondrien an das Cytoplasma fest. DELBRÜCK et al. (1959) fanden in Rattentumoren niedrige Aktivitäten der MDH und Isocitronensäure-DH. BÄR et al. (1963) konnten in malignen menschlichen Tumoren keine Verminderung der Enzyme des oxidativen Stoffwechsels feststellen.

Bislang wurde an menschlichen Tumoren keine eindeutige Verminderung der Enzyme des Citronensäurezyklus beschrieben. Die an tierischem Krebsgewebe gefundene Verringerung oxidativer Abbauvorgänge kann nur bedingt auf menschliche Tumoren übertragen werden, da es sich bei diesen um transplantierte und über längere Zeit gezüchtete Gewebe handelt.

Wir selbst bestimmten keine Enzyme des Citronensäurezyklus. Die hier untersuchten fünf Fermente konnten in den malignen Ovarialtumoren in deutlich höheren Aktivitäten nachgewiesen werden als in den normalen Ovarien. Dieses deutet auf eine allgemein erhöhte Stoffwechsellage in den maligenen Tumoren hin.

1956 veröffentlichte GREENSTEIN die Auffassung, die verschiedenen malignen Tumoren würden sich in ihren Stoffwechseleigenschaften einander angleichen, so sehr verschieden die normalen Muttergewebe auch seien. BÄR et al. (1963) konnten diese Theorie nach der biochemischen Untersuchung von 33 verschiedenen menschlichen Tumoren nicht bestätigen. Sie fanden große Unterschiede im Enzymmuster verschiedener Tumoren und eine weitgehende Ähnlichkeit derselben mit ihren normalen Muttergeweben.

In den malignen Tumoren des Ovars konnte in dieser Arbeit eine deutliche Erhöhung der Aldolase, Gl-6-P-Dehydrogenase, alkal. und sauren Phosphatase gegenüber den normalen Ovarien nachgewiesen werden, und damit eine biochemische Ähnlichkeit dieser Tumoren. Jedoch unterschie-

den sich die Adenocarcinome des Ovars in ihrer GLDH-Aktivität von einem malignen Granulosazelltumor, der eine wesentlich niedrigere Aktivität dieses Fermentes aufwies.

Die praeoperativ cytostatisch und radiologisch vorbehandelten Ovarialcarcinome unterschieden sich in der Aktivität der untersuchten Fermente nicht von den unbehandelten Ovarialcarcinomen. Auffallend war jedoch die sehr geringe Aktvität der Aldolase, GLDH, alk. und sauren Phosphatase in einem praeoperativ behandelten, schleimbildenden Adenocarcinom des Ovars. Die Aktivitäten der genannten Fermente lagen in diesem Tumor alle im Bereich derer normaler Ovarien.

In den untersuchten benignen Ovarialtumoren fanden sich Fermentaktivitäten, die im Bereich derer normaler Ovarien lagen. Nur die histologisch benigne Struma ovarii zeigt eine deutlich höhere Aktivität der GLDH als sie in den normalen Ovarien und den benignen Ovarialtumoren gefunden wurde. Jedoch stand nur ein Tumor dieser relativ seltenen histologischen Struktur zur Verfügung, so daß dieser auffallende Unterschied nicht genauer abgeklärt werden konnte. In den untersuchten normalen menschlichen Ovarien fanden sich größere Unterschiede in der Aktivität der Aldolase, GLDH und Gl-6-P-DH, was an eine zyklusabhängige Höhe der Fermentkonzentration denken läßt.

Die alkal. Phosphatase konnte in den normalen Ovarien in wesentlich höheren Aktivitäten nachgewiesen werden als die saure Phosphatase. Dies entspricht den Ergebnissen von G. JUNG (1965) an einem Corpus luteum des Menschen.

Die Aldolase und Gl-6-P-DH erwiesen sich in allen untersuchten Geweben als Fermente des cytoplasmatischen Raumes. Die Verteilung der Enzyme zeigte keinen Unterschied zwischen malignen Tumoren und normalen Ovarien.

Die GLDH konnte in der vorliegenden Arbeit in der Mitochondrien- und Cytoplasmafraktion etwa gleich stark nachgewiesen werden. Eine eindeutige Lokalisation dieses Fermentes in den Mitochondrien gelang nur bei den unbehandelten Adenocarcinomen des Ovars.

HOGEBOOM und SCHNEIDER (1953), BEAUFAY et al. (1959), DELBRÜCK (1959) und BÄR et al. (1963) wiesen die GLDH vorwiegend in den Mitochondrien nach. Dies konnten wir nur zum Teil in unseren Versuchsergebnissen bestätigen.

Die alk. und sauren Phosphatasen zeigten ihre bevorzugte Lokalisation in verschiedenen Zellfraktionen.

Während die Kernfraktion sehr arm an alk. Phosphatase war, konnte dort die saure Phosphatase bevorzugt nachgewiesen werden. Nur im normalen Ovar zeigte sich eine ausschließliche Lokalisation der sauren Phosphatase in der Mikrosomenfraktion. Von G. JUNG (1966) wurde über eine hohe Aktivität der sauren Phosphatase in der Zellkernfraktion eines malignen, papillären Cystoms berichtet. Die alk. Phosphatase dagegen ließ sich von uns in allen untersuchten Geweben in der Mitochondrien- und Cytoplasmafraktion nachweisen.

Wir konnten keine nennenswerten Unterschiede in der Verteilung der fünf untersuchten Fermente zwischen normalen Ovarien und malignen Ovarialtumoren nachweisen.

Da in den eigenen Untersuchungen Gewebshomogenate und deren Zellfraktionen untersucht wurden, können alle aufgezeigten Ergebnisse nur bedingt als die für die lebende Zelle zutreffend betrachtet werden. Bei der angewandten Methode werden die lebenden Zellen aus ihrem Verband gelöst und ihre Feinstruktur wird zerstört. Vor allem die Verteilung der Enzyme auf die einzelnen Zellfraktionen darf deshalb nicht als gesichert betrachtet werden, da es durch Einfrieren, Auftauen und Homogenisieren der Gewebsblöcke sicher zur Zerstörung von Gewebsmembranen kam und daraus eine Neuverteilung der Fermente auch innerhalb der Einzelzellen resultieren könnte.

E) ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die fünf Fermente Aldolase, Glutamatdehydrogenase, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und die alkalische und saure Phosphatase in malignen Ovarialtumoren, die teilweise praeoperativ cytostatisch und radiologisch vorbehandelt worden waren und in benignen Ovarialtumoren im Vergleich zum normalen Ovar bestimmt.
Es wurde die Gesamtaktivität und die Verteilung dieser fünf Fermente auf die einzelnen Zellfraktionen Kerne, Mitochondrien, Mikrosomen und Cytoplasma untersucht. Dabei fanden wir folgende Ergebnisse:

1.) In den malignen Ovarialtumoren zeigten sich deutlich erhöhte Aktivitäten der oben genannten fünf Fermente gegenüber dem normalen Ovar.

2.) Ein eindeutiger Unterschied in der Fermentaktivität zwischen praoperativ behandelten und unbehandelten Ovarialcarcinomen konnte nicht gefunden werden.

3.) Die Aktivität der untersuchten fünf Fermente in den benignen Ovarialtumoren lag im Bereich derer normaler Ovarien.

4.) Die Fermente Aldolase und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase konnten eindeutig in den cytoplasmatischen Raum lokalisiert werden.

5.) Die Glutamatdehydrogenase und die alkalische Phosphatase fanden sich bevorzugt in der Mitochondrien- und Cytoplasmafraktion.

6.) Die saure Phosphatase wurde vornehmlich in der Kernfraktion nachgewiesen.

7.) Die Aktivität der alkalischen Phosphatase war in allen untersuchten Geweben wesentlich höher als die der sauren Phosphatase.

8.) Ein eindeutiger Unterschied in der Verteilung der fünf Fermente auf die einzelnen Zellfraktionen in den verschiedenen Geweben konnte nicht nachgewiesen werden.

F) LITERATURVERZEICHNIS

ALAMANNI, V.: La fasfatasi alcalina nella fisiologica dell' endometrio. Riv. Ostetr. (Firenze) 11, 263-286 (1956)

ALBERS, D.: Die Änderung der Serumphosphatase bei Krebskranken und ihre Verwendung als diagnostische Reaktion. Zeitschrift f. exper. Med. 104, 146-159 (1938)

AMELUNG, D., HOFMANN, L. und OTTO, L.: Untersuchungen zur Haltbarkeit der Fermentaktivität im Serum. Deut. Mediz. Wochenschr. 91, 851-853 (1966)

ARVY, L.: Contribution à l'histoenzymologie de lòvaire. Z. Zellforsch. 51, 406-420 (1960)

BÄR, U., SCHMIDT, E. und SCHMIDT, F. W.: Enzymmuster und Isoenzyme menschlicher Tumoren. Klin. Wochenschr. 41, 977-988 (1963)

BAKER, R., GOVAN, D.: The effect of hormonal Therapy of Prostatic Cancer on Serum Aldolase. Cancer Research 13, 141-146 (1953)

BEAUFAY, H., BENDALL, D. S., BAUDHUIN, P., DE DUVE, C.: Tissue fractionation studies. 12) Intracellular Distribution of some Dehydrogenase, Alkaline Desoxyribonuclease and Iron in Rat liver tissue. Biochem. J. 73, 623 (1959)

BEET, A. E.: Potassium Permanganate in the Kjeldahl Method for the Determination of Nitrogen in Organic Substances. Nature 175, 513 (1955)

BEISENHERZ, G., BOLTZE, H. J., BÜCHER, Th., CZOK, R., GARBADE, K. H., MEYER-ARENDT, E., PFLEIDERER, G.: Diphosphofructose-Aldolase, Phosphogluceroaldehyd-DH, Lactat-DH, Glycerophosphat-DH, Pyruvatkinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang. Z. f. Naturforsch. 8b, 555-577 (1953)

BERGER, H.: Beitrag zur elektronenoptischen Zelldifferenzierung des soliden Mammacarcinoms und der Mastopathia cystica des Menschen. Z. f. Krebsforsch. 66, 73-85 (1964/65)

BESSEY, O. A., LOWRY, O. H., BROCK, M. J.: A Method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic milimeters of serum. J. biol. Chem. 164, 321-329 (1946)

BLACK, M.M., KLEINER, I.S., BOLKER, H.: Glycolytic inhibitor therapy in human malignant neoplasia.
Cancer Research 9, 599 (1949)

BRUNS, F.: Bestimmung und Eigenschaften der Serumaldolase.
Biochem. Zeitschr. 325, 156 (1954)

CAMURRI, M., RIO, F., TROPEA, P.F.: Attivita transaminasiche, aldolasia e lattico-dehydrogenasico in tessuti neoplastici dell' utero.
Riv. Ostet. Gynec. 14, 745-752 (1959)

CAREDDU, G.: L'attivita aldolasia dell'ovario nelle diverse situazioni fisiopathologiche (Indagine istochimica).
Studi sassaresi 41, 442-448 (1963)

DAVISON, N.M.: Stability of Acid Phosphatase in frozen Serum.
American J. Clin. Path. 23, 411-411 (1953)

DELBRÜCK, A., SCHIMASSEK, H., BARTSCH, K., BÜCHER, Th.: Enzymverteilungsmuster in einigen Organen und in experimentellen Tumoren der Ratte und der Maus.
Biochem. Zeitschr. 331, 297-311 (1959)

EISFELD, G.: Die Bedeutung der Serumphosphatasen für die Diagnose des metastasierenden Prostatacarcinoms.
Med. Klin. 58, 367 (1963)

FERRARIO, E., FUMAGALLI, E.: Aldolasemia e neoplasic maligne del tratto genitale feminile.
Clin. Ginec. (Catania) 3, 174-180 (1961)

FILIPPA, G.: Die diagnostische Bedeutung der Glutamat-Dehydrogenase-aktivität im Serum.
Enzymol. biol. et clin. 3, 97-128 (1963)

FORD, D.H., HIRSCHMANN, A.: Alkaline phosphatase activity in the Ovaries of immature and maturing albino rats.
Anat. Rec. 121, 531-547 (1955)

FRISCH, C., WILLHEIM, R.: Studien zur Pasteur-Meyerhofschen Reaktion.
Biochem. Zeitschr. 287, 203-205 (1936)

FRÖSNER, G.: Untersuchungen über Aldolase und unspezifische Phosphatase im Schweineovar.
Inauguraldissertation Tübingen 1966.

GENESI, M.: Rilievi istopographici sulla distribuzione della fosfatasi alcalina. Attivita enzymatica dell'ovario, dell'utero e delle formazioni annessiali parovariche umane in condicioni normali e patologiche.
Minerva ginecol. (Torino) 5, 302-313 (1953)

GLOCK, G.E., McLEAN, P.: Levels of enzymes of the direct oxidative pathway of carbohydrate Metabolism in Mammalian tissues and tumors.
Biochem.J. 56, 171-175 (1954)

GLOCK, G.E.: Glucose-6-Phosphate-Dehydrogenase and 6-Phosphogluconate-Dehydrogenase.
In: Handbuch der physiologisch und pathologisch-chemischen Analyse, hgb. von Hoppe-Seyler-Thierfelder. 10. Auflage, 6 A, 418 (1964)

GOLDBERG, B., JONES jr., H.W.: Acid phosphatase of the endometrium. Histochem. Demonstration in various normal and pathologic conditions.
Obstet. Gynaecol. 7, 542-546 (1956)

GREENSTEIN, J.P.: Some biochemical characteristics of morphologically separable cancers.
Cancer Research 16, 641-653 (1956)

GREENSTEIN, J.P., MEISTER, A.: Tumor Enzymology
In: The Enzymes ed. MYRBÄCK, K., SUMNER, J.B., II, 2d (1952)

GREENSTEIN, J.P.: Biochemistry of Cancer
2.Ed. New York: Academic Press Inc. (1954)

GROPP, A., BONTKE, E., HUPE, K.: Untersuchungen zum Nachweis der alkalischen Phosphatase an in vitro gezüchteten menschlichen Carcinomzellen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beziehung zur Zelloberfläche.
Exp.Cell.Res. 15, 200-213 (1958)

GUSBERG, S.B., ATKINSON, W.B.: Histochemical observations on alcaline Phosphatase in Hyperplasia and Adenocarcinoma of human Endometrium.
Cancer Research 9, 554 (1949)

HEINLEIN, H.: Die Oxydoreduktion maligner Tumoren.
Zeitschr.f.Krebsforschg. 30, 506-512 (1930)

HILL, B.R., LEVI, C.: Elevation of Serum Component in neoplastic disease.
Cancer Research 14, 513-517 (1954)

HOELSCHER, H.A.: Über den Nachweis von Dehydrasen der Tumorzelle mittels Tetrazoliumsalzen.
Zeitschrft. für Krebsforschg. 56, 587-595 (1950)

HOGEBOOM, G.H., SCHNEIDER, W.C.: Intracellular distribution of enzymes. VIII The Distribution of DPN-Cytochrom-c-Reductase in Normal Mouse Liver and Mouse Hepatoma.
J.Nat.Canc.Inst. 10, 983-987 (1950)

HOGEBOOM, G.H., SCHNEIDER, W.C.: Intracellular distribution of enzymes. XI. Glutamic Dehydrogenase.
J. of Biol. Chem. 204, 233 (1953)

JASZMANN, L.: The clinical application of endometrial phosphatase determinations.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 67, 411-419 (1960)

IGARASHI, A.: Phosphatase in the Serum and ascites of patients with Cancer of the uterus and its activation and restraintment by metabolism.
J. Jap. Obstet. Gynaec. Soc. 3, 190-206 (1957)

JUNG, G.: Biochemische Untersuchungen über Enzyme im Ovar.
Habilitationsschrift Tübingen 1965

JUNG, G.: Enzymuntersuchungen im Ovarialcarcinom.
Geburtshilfe u. Frauenheilkde. 26, 771 (1966)

JUNG, G., KIDESS, E., CLOOS, A., UNBEHAUN, V.: Isoenzyme der Laktat-dehydrogenase beim Ovarialcarcinom.
Med. Welt 18, 3112-3115 (1967)

KAWAKATSU, K., MORI, M.: Histochemical evaluation of enzymatic activities in human squamous cell cancer.
Cancer Research 23, 539-545 (1963)

KERTESZ, D., ALBANO, A.: The effect of the addition of a terminal respiratory system on the glucose metabolism of neoplastic tissues.
Cancer Research 15, 394-397 (1955)

KIDESS, E.: Untersuchungen über Fermente im Ovarialgewebe.
Inauguraldissertation Tübingen 1960

KIELLEY, R.K.: Oxidative phosphorilation by mitochondria of transplantable mouse hepatoma and mouse liver.
Cancer Research 12, 124-128 (1952)

KLEINE, T.O.: Die Aktivität der Kreatinkinase und anderer Enzyme des Kohlehydrat- und Proteinstoffwechsels in benignen und malignen Tumoren des Menschen.
Klin. Woschenschrft. 43, 807-813 (1965)

KRIZ, J.: A histochemical examination of alcaline phosphatase in tumours of the female genitalia.
Cèshoslov. Gynaekol. 21/35, 361-381 (1956)

LANG, K., SIEBERT, G.: Aufarbeitung von Gewebe und Zellen.
In: Physiologische und Pathologisch chemische Analyse hrsgb. von HOPPE-SEYLER-THIERFELDER II, 2, 537 (1955)

Sr. LENTA, M.P.OSB., Sr. RIEHL, M.A.OSB: Dehydrogenase Studies of Tissue from Normal and Tumor-Bearing Mice. 2. Lactic and Malic Dehydrogenases.
Cancer Research 9, 47-51 (1949)

LE PAGE, G.A., POTTER, V.R., BUSCH, H., HEIDELBERGER, C., HULBERT, R.B.: Growth of Carcinoma Implants in Fed and Fasted Rats. Cancer Research 12, 153-157 (1952)

LEVINE, B.: Sex Steroids, Alkaline Phosphatase and Endometrial Carcinoma.
Obstet. and Gynec. 22, 563-566 (1963)

LINHARDT, K., WALTER, K.: Methoden der enzymatischen Analyse. hrsgb. BERGMEYER (1962), S. 783

LOEHR, G.W., WALLER, H.D.: In: Methoden der enzymatischen Analyse. hrsgb. BERGMEYER, H.U.(1962), S. 744

LOVOTTI, A.: Làttivita della fosfatasi alcalinanell endometrio umano. Riv. Ostetr. (Milano) 38, 904-905 (1956)

LUH, W., BRANDAU, H.: Die Lokalisation von Oxydoreduktasen im normalen menschlichen Ovar. Ein Beitrag zur Funktionellen Morphologie des Ovars.
Z.Geburtsh. u. Gynaek. 162, 113-132 (1964)

MENTASTI, P., PECORARI, P.: Attivita glicolitica del liquido ascitico da neoplasia ovarica.
Monit. ostet. ginec. 35, 32-49 (1964)

MERTEN, R., SOLBACH, H.G.: Enzymverteilungsmuster des glykolytischen Systems und Citronensäurecyclus im Plasma Krebskranker.
Klinische Wochenschrift 39, 222-231 (1961)

MIDER, G.B.: Some Aspects of Nitrogen and Energie Metabolism in Cancers Subjects. A Review.
Cancer Research 11, 821-829 (1951)

NEGELEIN, E.: Über die glykolytische Wirkung des embryonalen Gewebes. Biochem. Zeitschr. 165, 122 (1925)

OMNIS, A., CAREDDU, G.: Richerche istochemiche sull aldolasi nell apparato genitale feminile. 1. Citopochimica ed istotopografica dell aldolasi.
Attual.Ostet.ginec. 8, 397-417 (1962)

PEARSON, B., RICHARDSON, F.: Differences in Alkaline Phosphatase and Distribution Among Several Transplantated Mammary Tumors in Mice.
Cancer Reserarch 12, 287 (1952)

POTTER, V.R.: The Assay of Animal Tissues for Respiratory Enzymes. 5. The Malic Dehydrogenase System.
J. Biol.Chem. 165, 311-324 (1946)

POTTER, V.R.: Studies on the Krebs Citric Acid Cycle in Tumor, with Homogenates, Slices, and in Vivo Technics.
Cancer Res. 11, 565-570 (1951)

REIF, A.E., VAN POTTER, A., LE PAGE, G.A.: Aerobic Glycolysis in Homogenates of Normal and Tumor Tissues.
Cancer Research 13, 807-815 (1953)

ROETTH, H.: Chemical Characteristics and Varying Degrees of Malignancy in Tumors of the Human Ovary. 1. Oxygen Consumption and Lactic Acid Production.
Cancer Research 17, 833-840 (1957)

REITH, A., SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W.: Über die Isoenzyme der Sauren Phosphatase und ihre intracelluläre Lokalisation in der menschlichen und der Rattenleber.
Klin. Wochenschr. 42, 915-918 (1964)

SAUBERLICH, H.E., BAUMANN, C.A.: The Amino Acid Content of Certain Normal and Neoplastic Tissues.
Cancer Research 11, 67-71 (1951)

SCHMIDT, C.G.: Biological Oxidation and Glycolysis in Tumors.
Klin. Wochenschr. 33, 409-419 (1955)

SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W.: Methode und Wert der Bestimmung der Glutaminsäure-Dehydrogenase-Aktivität im Serum.
Klin. Wochenschr. 40, 962-969 (1962)

SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W., WILDHIRT, E.: Ferment-Aktivitäts-Bestimmung in der menschlichen Leber.
Klinische Wochenschr. 37, 1221-1229 (1959)

SHONK, C.E., BOXER, G.E.: Enzyme in Human Tissues.
1. Methods for the Determination of Glycolytic Enzymes.
Cancer Research 24,1, 709-721 (1964)

SIBLEY, J.A., LEHNINGER, A.L.: Determination of Aldolase in Animal Tissues.
J. Biol. Chem. 177, 859-872 (1949)

SIBLEY, J.A., LEHNINGER, A.L.: Serum Zymohexase in Cancer.
Cancer Research 9, 547 (1949)

SIBLEY, J.A., FLEISHER, G.A., HIGGINS, G.M.: Significance of the Level of Serum Aldolase in Tumor Bearing Animals
Cancer Research 15, 306-314 (1955)

SIBLEY, J.A., FLEISHER, G.A.: Aldolase content of Normal and Neoplastic Tissue.
Cancer Research 15, 609-611 (1955)

SIELBERT, G.: Enzyme und Substrate der Glycolyse in isolierten Zellkernen.
Biochem. Zeitschr. 334, 369-387 (1961)

SÜDHOF, H., STEINDORFF, H., GÖTZE, Ch., VOSS, I., LÖHR, H.: Zur Bestimmung der Alkalischen und Sauren Phosphatase im Serum.
Deutsche Med. Wochenschr. 87,1, 249 (1962)

UNBEHAUN, V., GABRIEL, H., JUNG, G.: Lactatdehydrogenase-Isoenzyme im Ovarium.
Die Med. Welt 18, 3116-3117 (1967)

WAISMANN, H.A., MONDER, C., WILLIAMS, J.N.: Glutamic Acid Dehydrogenase and Glutamic Oxalacetic Transaminase of Blood in Leukemia and Cancer
Cancer Research 16, 344-347 (1956)

WARBURG, O., POSENER, K., NEGELEIN, E.: Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle.
Biochem. Zeitschr. 152, 309-344 (1924)

WARBURG, O.: Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle.
Klin. Wochenschr. 4, 1, 534-536 (1925)

WARBURG, O., CHRISTIAN, W.: Gärungsfermente im Blutserum von Tumor-Ratten.
Biochem. Zeitschr. 314, 399-402 (1943)

WARBURG, O., HIEPLER, E.: Versuche mit Ascitestumorzellen.
Zeitschr. Naturforschung 7b, 193-194 (1952)

WARBURG, O., GAWEHN, K., LANGE, G.: Über das Verhalten von Ascites-Krebszellen zu Zymohexase.
Zeitschr. Naturforschung 9b, 109-114 (1954)

WARBURG, O.: On the Origin of Cancer cells.
Science 123, 309-314 (1956)

WARBURG, O., GAWEHN, K., GEISSLER, A.W.: Stoffwechsel von embryonalen Zellen und von Krebszellen.
Zeitschr. Naturforschung 11b, 657-663 (1956)

WENNER, C.E., SPIRTES, M.A., WEINHOUSE, E.: Metabolism of Neoplastic Tissue. A Survey of Enzymes of the Citric Acid Cycle in Transplanted Tumors.
Cancer Research, 12, 44-49 (1952)

WENNER, C.E., WEINHOUSE, S.: Metabolism of Neoplastic Tissue. 3. Diphosphopyridine Nucleotide Requirements for Oxidations by Mitochondria of Neoplastic and Non-neoplastic Tissues.
Cancer Research 13, 21-26 (1953)

WENNER, C.E., DUNN, D.F., WEINHOUSE, S.: A study of Glucose Oxydation in Whole Homogenates of Normal and Neoplastic Tissues.
J. Biol. Chem. 205, 409-422 (1953)

WHITE, L.P.: Serum Enzymes. 2. Glycolytic Enzymes in Patients With Cancer and Other Deseases.
J. Natl. Cancer Institute 21, 671-684 (1958)

WILLIAMS-Ashmann, H.G.: Oxydation of Hexose Phosphates.
Cancer Res. 13, 721-725 (1953)

Lebenslauf

Am 27.6.1942 wurde ich, Inge Geier, geb. Ganzenmüller, als Tochter des Prof. Erich Ganzenmüller und seiner Ehefrau Anne, geb. Rapp, in Stuttgart geboren. Von 1948 bis 1952 besuchte ich die Grundschule in Stuttgart und Schwäbisch-Gmünd. Anschließend war ich bis 1962 Schülerin am Hans-Baldung-Gymnasium in Schwäbisch Gmünd, an dem ich die Reifeprüfung ablegte.

Mit dem Sommersemester 1962 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Tübingen, wo ich am 28.3.1963 das Vorphysikum und am 15.10.1964 das Physikum bestand. Nach dem nun folgenden Studium von einem Semester an der Universität Hamburg und fünf Semestern an der Universität Tübingen beendete ich das Studium der Medizin mit dem Medizinischen Staatsexamen am 13.2.1968 in Tübingen.